Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) Ficha Técnica

Español

Prueba rápida cualitativa para el diagnóstico de Sífilis para detectar anticuerpos (IgG e IgM) para Treponema Pallidum (TP) cualitativamente en sangre total, suero o plasma.
Solo para uso diagnóstico profesional in vitro.

USO INDICADO

La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG e IgM) para *Treponema Pallidum (TP)* en sangre total, suero o plasma para ayuda del diagnóstico de Sífilis.

RESUMEN

El *Treponema Pallidum (TP)* es un agente que causa la enfermedad venérea Sífilis. *TP* es una bacteria espiroqueta con una cubierta exterior y una membrana citoplasmática.[1] Se sabe relativamente poco sobre el organismo en comparación con otras bacteria patógenas. De acuerdo con el Centro de Control de Enfermedades (CDC), el número de casos de infecciones de Sífilis se ha incrementado marcadamente desde 1985.[2] Algunos factores claves que han contribuido a este incremento incluyen la adición al crack cocaína y la gran incidencia de la prostitución entre los drogadictos.[3] Un estudio reportó que un gran número de mujeres infectadas con VIH mostraron reactividad en las pruebas serológicas de Sífilis.[4]
Dentro de las características de la Sífilis se encuentran: múltiples etapas clínicas, largos periodos latentes e infección asintomática. La infección de sífilis primaria se define a través de la presencia de un chancro en el sitio de inoculación. El anticuerpo responde a la bacteria TP que puede determinarse entre 4 a 7 días después de que el chancro aparece. La infección permanece detectable hasta que el paciente recibe tratamiento adecuado.[5]
La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) utiliza una doble combinación de antígeno de Sífilis: un antígeno de Sífilis cubierto con partículas y un antígeno de Sífilis inmovilizado sobre membrana para detectar anticuerpos TP (IgG e IgM) cualitativa y selectivamente en sangre total, suero o plasma.

PRINCIPIO

La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en una tira de membrana para la detección de anticuerpos TP (IgG e IgM) en sangre total, suero o plasma. En este procedimiento, el antígeno de Sífilis recombinante es inmovilizado en la región de la línea de prueba de la tira. Después, la muestra se agrega a la almohadilla de la tira, la cual reacciona con el antígeno de Sífilis cubierto con las partículas del antígeno que ha sido aplicado a la almohadilla previamente. La mezcla migra cromatográficamente a lo largo de la longitud de la tira de prueba e interactúa con el antígeno inmovilizado de Sífilis. El formato de prueba de doble antígeno puede detectar tanto IgG como IgM en la muestra. Si la muestra contiene anticuerpos TP, una línea de color aparecerá en la región de prueba indicando un resultado positivo. Si la muestra no contiene anticuerpos TP, una línea coloreada no aparecerá en la región, indicando un resultado negativo. Para llevar a cabo el control de procedimiento, una línea roja siempre aparecerá en la región de línea de control de la región de prueba, indicando que un volumen apropiado de muestra ha sido depositado y que la prueba ha sido realizada adecuadamente. De lo contrario, los resultados de la prueba no son válidos.

REACTIVOS

La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) contiene antígeno de Sífilis recubierto con partículas y antígeno de Sífilis cubriendo la membrana.

PRECAUCIONES

- Solo para uso diagnóstico profesional *in vitro*. No se utilice después de la fecha de expiración.
- No comer, beber o fumar en las áreas donde las muestras y los estuches han sido manipulados.
- No utilice la prueba si el empaque está dañado.
- Manipular todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los riesgos microbiológicos y siga los procedimientos estándares establecidos para el desecho adecuado de las muestras.
- Use la ropa adecuada, tal como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras estén siendo utilizadas.
- La prueba, una vez utilizado, debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden causar resultados adversos.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene el empaque sellado, ya sea a temperatura ambiente o refrigerado de (2-30°C). La tira de prueba es estable hasta la fecha de vencimiento que se encuentra en el estuche sellado. La tira de prueba debe permanecer sellada hasta que se utilice. **NO CONGELAR**. No utilice después de la fecha de vencimiento.

COLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) puede utilizarse usando sangre total (de venopuntura o punción dactilar), suero o plasma.
- Para colecta de muestras de **sangre total por punción dactilar:**
  - Lave la mano del paciente con jabón y agua tibia o limpie con un copo de algodón con alcohol. Deje secar.
  - Masaje la mano, sin tocar el sitio de punción frotando hacia abajo con dirección a las puntas del dedo anular o medio.
  - Puncione la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera muestra de sangre.
  - Suavemente masaje la mano desde la muñeca hacia la palma y hacia el dedo escogido de tal forma que se forme una gota redonda de sangre en el sitio que se puncionó.
  - Agregue la muestra de sangre total de la punción dactilar en la tira de prueba **usando un tubo capilar:**
    - Toque el final del tubo capilar a la sangre hasta llenar aproximadamente 50 µl. Evite burbujas de aire.
    - Coloque el bulbo sobre el extremo superior del tubo capilar, luego, oprima el bulbo para dispensar la sangre total en la almohadilla de la tira de prueba.
  - Agregue la muestra de sangre total de la punción dactilar en la tira de prueba usando **gotas de sangre directa:**
    - Coloque el dedo del paciente de tal forma que la gota de sangre esté justo encima de la almohadilla de la tira de prueba.
    - Deje caer dos gotas de la punción dactilar de sangre total en la almohadilla de la tira de prueba, o mueva el dedo del paciente de forma tal que la gota toque la almohadilla de la tira de prueba. Evite que el dedo toque directamente la almohadilla de la tira de prueba.
- Separe el suero o el plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar hemólisis. Use solamente muestras claras no- hemolizadas.
- La prueba se debe realizar inmediatamente después de la recolección. No deje las muestras a temperatura ambiente por largos períodos. Muestras de suero y plasma pueden ser almacenadas de 2-8°C, hasta 3 días. Para almacenamientos más prolongados, las muestras deben ser mantenidas por debajo de –20°C. La sangre total recolectada a través de venopunción debe ser almacenada de 2-8°C si la prueba se va a realizar dentro de los 2 días siguientes a la recolección. No congelar las muestras de sangre total. La Sangre total recolectada por punción dactilar debe ser analizada inmediatamente.
- Llevar las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Muestras congeladas se deben descongelar completamente y mezclarlas completamente antes de realizar la prueba. Las muestras no se deben congelar y descongelar repetidamente.
- Si las muestras han sido enviadas deben cumplir con las regulaciones locales de empaque y envío de transporte de agentes etiológicos.

MATERIALES

Materiales Suministrados

- Tiras
- Buffer
- Cuentagotas
- Tarjetas de prueba
- Ficha técnica

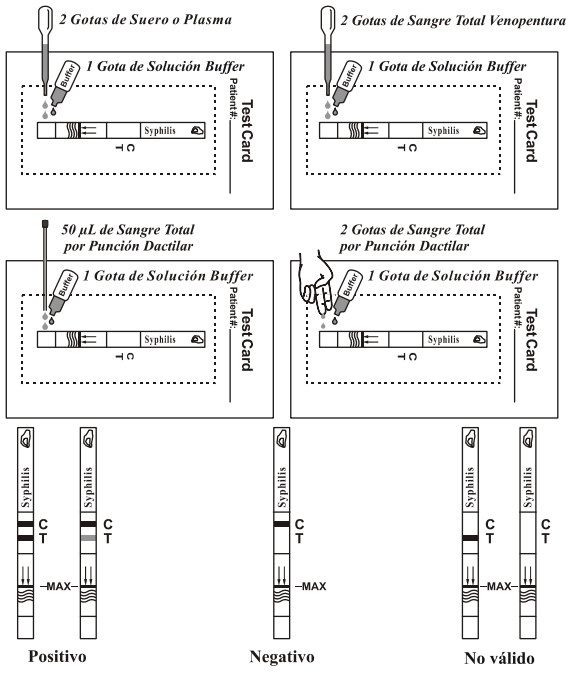
Materiales Requeridos no Suministrados

- Contenedor para la recogida de la muestra
- Lancetas (para punción dactilar de sangre total únicamente)
- Centrifuga
- Cronómetro
- Tubos capilares heparinizados y bulbo dispensador (solamente para sangre total por punción dactilar)

INSTRUCCIONES DE USO

Deje que la tira, buffer, muestras y/o controles alcancen a temperatura ambiente (15-30°C) antes de ser utilizados.

1. Lleve el producto a temperatura ambiente antes de abrirlo. Retire la tira de prueba del empaque de aluminio y utilícela tan pronto como sea posible. Para obtener un mejor resultado, la prueba se debe realizar en 1 hora.
2. Retire la prueba del empaque protector e introduzca la tira de prueba hasta la mitad con la flecha apuntando hacia debajo de la prueba, tal como está ilustrado.
3. Para **muestras de suero o plasma:** Sujete el gotero verticalmente y **transfiera 2 gotas completas de suero o plasma** (aprox. 50 µl) sobre la almohadilla del área de prueba, entonces añada una **gota de buffer** (aprox. 40 µl) y empiece a medir el tiempo. Vea las ilustraciones abajo.
   Para **venopuntura de las muestras de sangre total:** Sujete el gotero verticalmente y **transfiera dos gotas de sangre total** (aproxim. 50 µl) sobre la almohadilla del área de la prueba de la tira., entonces añada una **gota de Buffer** (aprox. 40 µl) y comience a medir el tiempo. Ver ilustración abajo
   Para **las muestras de sangre total por punción dactilar:**
   - **Para usar un tubo capilar**: Llene el tubo capilar y **transfiera aproximadamente 50 µl de muestras de Sangre Total** por punción dactilar sobre la almohadilla del área de prueba de la tira, entonces agregue una **gota de buffer** (aprox. 40 µl). Comience a medir el tiempo. Ver ilustración abajo.
   - **Usando gota de sangre directa:** Utilice dos **gotas de sangre directa de la punción dactilar** (aprox. 50 µl) para que caigan sobre la almohadilla de la prueba de tira, luego agregue una **gota de solución Buffer** (aproximadamente 40 µl) y mida el tiempo. Ver instrucción abajo.
4. Espere por la aparición de línea (s) roja(s). Los resultados deben ser **leídos en 10 minutos**. No leer el resultado después de 30 minutos.



INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

(Consultar la figura anterior)

POSITIVO:* Dos líneas rojas distintas aparecerán. Una línea debe aparecer en la región de línea de control (C) y otra línea debe aparecer en la región de la línea de prueba (T).
***NOTA:** La intensidad del color rojo en la región de línea de prueba (T) variará dependiendo de la concentración de los anticuerpos *TP* presentes en la muestra. Por consiguiente, si una sombra en el color rojo está en la región de línea de prueba, se debe considerar positivo.
NEGATIVO: Una línea roja aparecerá en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea ni roja ni rosada en la región de línea de prueba (T).
NO VÁLIDO: La línea de control no aparece. El volumen de la muestra no es suficiente o las técnicas de procedimiento no son las más adecuadas y estas son las razones por las cuales la línea de control falla. Revise los procedimientos y repita la prueba con una nueva tira de prueba. Si los problemas persisten, descontinúe el uso del estuche de prueba inmediatamente y contacte su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles control (C), lo cual es un control de procedimiento interno. Esto confirma un volumen suficiente de muestra y una técnica de procedimiento correcto.
Los estándares de control no se suministran en este estuche. Sin embargo, se recomienda que controles positivos y negativos se realicen en buenas practicas de laboratorio para confirmar los procedimientos de prueba y para verificar el uso correcto de la prueba.

LIMITACIONES

1. La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) es únicamente para uso de diagnóstico *in vitro*. La prueba se debe utilizar para la detección de anticuerpos *TP* en muestras de sangre total, suero o plasma únicamente. Ni los valores cuantitativos ni el incremento en la rata porcentual de anticuerpos *TP* se pueden determinar a través de esta prueba cualitativa.
2. La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) solamente indicará la presencia de anticuerpos *TP* en la muestra y no debe ser utilizado como único criterio para el diagnóstico de infección *TP*.
3. Como todas las pruebas de diagnóstico, los resultados deben ser interpretados junto con la información clínica disponible y avalada por el médico.
4. Si la prueba resulta negativa y los síntomas clínicos persisten, las pruebas adicionales deben realizarse utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye ninguna posibilidad de infección por *TP*.

VALORES ESPERADOS

La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) ha sido comparado con una prueba de Sífilis TPHA comercial, demostrando una precisión superior al 99,7%.

RENDIMIENTO DE LAS CARACTERÍSTICAS

Sensibilidad Clínica, Especificidad y Exactitud

La Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) ha identificado correctamente muestras de un panel de seroconversion y ha sido comparado con una prueba de Sífilis TPHA Comercial utilizando muestras clínicas. El resultado muestra que la sensibilidad relativa de la Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) es superior al 99,7% y la especificidad relativa es 99,6%.

Método		TPHA		Resultados Totales
Sífilis Ultra Prueba Rápida en Tira	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	384	2	386
	Negativo	1	493	494
Resultados Totales		385	495	880

Sensibilidad Relativa: 99,7% (98,6-100,0%)* Especificidad Relativa: 99,6% (98,6-100%)*
Exactitud: 99,7% (99,0%-99,9%)* * 95% Intervalo de Confidencialidad

Precisión

Intraensayo

Dentro de una precisión que ha sido determinada al utilizar 10 replicas de 4 muestras: un valor negativo, un valor bajo positivo, un medio positivo y un valor alto positivo. El valor negativo, el valor bajo positivo, el medio positivo y el valor alto positivo han sido identificados correctamente superiores al >99% de las veces.

Interensayo

Entre la precisión que ha sido determinada a través de 10 ensayos independientes sobre las mismas cuatro muestras: un valor negativo, uno bajo positivo, uno medio positivo y uno alto positivo. Tres diferentes lotes del Prueba Ultra Rápida de Sífilis en Tira (Sangre Total/Suero/Plasma) se han probado sobre un período de tres días usando especimenes negativos, bajo positivos, medio positivos y altos positivos. Las muestras fueron correctamente identificadas en un >99% de las veces.

BIBLIOGRAFIA

1. Claire M. Fraser. *Complete genome sequence of Treponema Pallidum, the syphilis spirochete*. Science (1998); 281 July: 375-381.
2. Center for Disease Control. *Recommendations for diagnosing and treating syphilis in HIV-infected patients*. MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. (1988); 37: 601
3. Aral R. Marx. *Crack, sex and STD,* Sexually Transmitted Diseases, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. *Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases*, Sexually Transmitted Diseases 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C.*Testing for Syphilis*, Dermatologic Clinic 1994; 12 Jan: 9-17

Índice de Símbolos

	Consulte las instrucciones de uso	Σ	Pruebas por kit	EC REP	Representante autorizado
IVD	Solo para uso de diagnóstico *in vitro*		Caducidad		No reutilizar
2°C 30°C	Almacenar entre 2-30°C	LOT	Número de lote	REF	Nº de referencia

Abon Biopharm (Hangzhou) Co., Ltd.
#198 12th Street East,
Hangzhou Economic & Technological Development Area,
Hangzhou, 310018, P.R.China

EC REP
Wellkang Ltd
Suite B, 29 Harley Street
LONDON, W1G 9QR, U.K.

Número: 1155994401
Fecha efectiva: 2010-12-21

Abbott

Bioline™

RSV

RSV (Respiratory Syncytial Virus) Antigen Test
Test antigène du VRS(virus respiratoire syncytial)
Prueba antígeno de VSR (virus sincitial respiratorio)
Teste de antígeno de RSV(virus sincicial respiratório)
RSV-Antigen-Test (RSV = Respiratorisches Synzytial-Virus)
Test per la rilevazione dell'antigene del RSV (virus respiratorio sinciziale)

REF 40FK12

ENGLISH

About the test

[Introduction] RSV is the most common respiratory virus in infants and young children and most often infects infants under the age of two. In most infants, the virus causes symptoms resembling those of the common cold, including fever and runny nose, but can lead to more serious symptoms such as coughing, difficulty breathing, and wheezing. In infants born prematurely and/or with chronic lung disease, RSV can cause a severe or even lifethreatening disease. Prior to the introduction of Synagis, a monoclonal antibody used to prevent serious lower respiratory tract disease caused by RSV, the virus resulted in over 125,000 infantile hospitalizations each year. There was a high mortality rate among infants who were born premature. Specially selected mouse monoclonal anti-RSV antibodies are used as detector materials in Bioline™ RSV test. These enable the test to identify RSV in NPA with a high degree of accuracy.
[Test principle] Bioline™ RSV test is immobilized with mouse monoclonal anti-RSV antibody as capture material. And the specially selected antibodies are used as detector materials. These enable Bioline™ RSV test to identify RSV antigen in nasopharyngeal aspiration (NPA), with a high degree of accuracy. Bioline™ RSV test involves the extraction of RSV viral antigen by disrupting and exposing the internal viral nucleoproteins of nasopharyngeal aspirate (NPA) and the insertion of the test strip into the extraction reagent tube. Bioline™ RSV test strip has 2 pre-scored lines, "T" (Test Line) and "C" (Control Line) on the surface of the strip. Two lines in result window are not visible before applying any specimens. The Control Line is used for procedural control. Control line should always appear if the test procedure is performed properly and the test reagents of control line are working. The T line, on the result window, is the result window if there is enough RSV antigen in the specimen. If RSV antigen are not present in the specimen, there is no visible appears in "T".
[Intended use] Bioline™ RSV rapid test is a chromatographic immunoassay for the qualitative detection of Respiratory Syncytial Virus (RSV) in nasopharyngeal aspirate (NPA) samples. This kit is intended for professional use and for in vitro diagnostic use only.

Materials provided and active ingredients of main components

1. Bioline™ RSV test kit contains the following items to perform the assay:
   - 25 Test strips with desiccant in individual foil pouches
   - Extraction buffer (1 x 10 ml/vial)
   - 25 Disposable test tubes
   - 50 Disposable droppers
   - 1 Instructions for use
2. Active ingredients of main components
   - 1 test strip includes:
     - Gold conjugate: Mouse monoclonal anti-RSV gold-colloid (0.17±0.03 µg)
     - Test line: Mouse monoclonal anti-RSV antibody (0.40±0.08 µg)
     - Control line: Anti-mouse IgG (0.80±0.16 µg)
   - Extraction buffer includes: Tricine (0.4 M), NaCl (g.s.), Triton™ X-100 (q.s.), Sodium azide (0.02 %)

Materials required but not provided

- Protective gloves, Timer, Biohazard container

Kit storage and stability

1. The test kit should be stored between 1 °C and 30 °C. Do not freeze the kit or its components.
2. The test strip is sensitive to both heat and humidity. Perform the test immediately after removing the test strip from the foil pouch.
3. Do not use the kit or its components beyond the expiration date.
4. The shelf life of the kit is as indicated on the outer package.
5. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.

Warning

1. For in vitro diagnostic use only. Do not reuse the test strip.
2. The instructions must be followed exactly to achieve accurate results. Any individual performing an assay with this product must be trained in its use and must be experienced in laboratory procedures.
3. Do not eat or smoke while handling specimens.
4. Wear protective gloves while handling specimens and wash hands thoroughly afterwards.
5. Do not touch inner membrane of the result window by hand. It can affect the test result.
6. Avoid splashing or aerosol formation of specimen and extraction buffer.
7. Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
8. Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials in a biohazard container as if they were infectious waste.
9. Do not mix or interchange different specimens.
10. Components must not be used after the expiration date printed on the labels. Do not mix or interchange different batches/lots of reagents.
11. Do not drink extraction buffer.
12. Bioline™ RSV extraction buffer contains a proprietary anti-microbial agent, sodium azide, which presents no hazard to the user if normal laboratory safety precautions are followed. If contact with extraction buffer to the eyes and/or skin, wash affected area with soap and water immediately. Also irritation or signs of toxicity occur, seek medical attention.

Specimen collection and handling

1. Specimen collection
   - RSV is recovered almost exclusively from the respiratory tract.
   - Use mucus trap and catheter to collect NPA specimen.
   - Nasal swab is not recommended as a specimen collection method due to great variation of RSV particles in swab. When using a nasal swab, users cannot expect the same test accuracy that can be achieved with an NPA specimen.
   - It is strongly recommended to avoid the use of sputum.
2. Specimen transport and storage
   - The NPA specimens can be tested as soon as possible after collection. If necessary, specimens may be stored at 2 - 8 °C for up to 48 hours or at -20 °C for 7 days.
   - Do not treat specimens with solutions containing formaldehyde or its derivatives.

Test procedure (refer to figure)

1. Bring the test strip and specimen to a temperature between 15-30 °C prior to testing.
2. Using a disposable dropper provided, draw the extraction buffer up to the fill line (200 - 250 µl) and add the drawn buffer into the empty test tube provided.
3. Using a different disposable dropper provided, draw the specimen up to the fill line (200 - 250 µl) and mix the drawn specimen with the test tube containing the extraction buffer to achieve a dilution ratio of 1/2 (1v:1v).
4. Mix well to homogenize the solution.
5. Let the test tube rest for 10 minutes at a temperature between 15 - 30 °C.
6. With the arrows on the test strip pointing down, insert the test strip into the test tube.
7. Do not handle or move the test strip or test tube until it is time to read the test result.
8. Read the test result at 15 minutes; do not read the test result after 15 minutes.

Test interpretation (refer to figure)

[Negative result:] Only the control line (C) appears.
[Positive result: Both the control line (C) and the test line (T) appear.

⚠ **Caution:** The presence of any test line, no matter how faint, the result is considered positive.

[Invalid result: Control line (C) fails to appear.
If the control line is not visible within the result window or only the test line is visible after performing the test, the result is considered invalid. The shortage of flow is the most likely reason for the invalid result and test may have deteriorated. It is recommended that the specimen be retested using a new test kit.

Test limitations

1. The contents of this kit are to be used for the qualitative detection of RSV from NPA.
2. Failure to follow the test procedure and instructions for interpretation of test results may adversely affect test performance and/or invalidate the test result.
3. Test results must be evaluated in conjunction with other clinical data available to the physician.
4. NPA specimens that are collected after the acute phase of infection may contain antigen titers below the reagent's sensitivity threshold. If a negative result is obtained and clinical symptoms, a culture should be started to check the specimen for the presence of RSV.

Internal quality control

Bioline™ RSV test has a test line (T) and a control line (C). Neither the test line nor the control line is visible in the result window before applying any specimens. The control line is used for procedural control only. The presence of the control line indicates that the diluent has been applied successfully and that the active ingredients of the main components on the strip are functional, but it does not guarantee that the specimen has been properly applied and does not rule out errors.

Product. Disclaimer:
While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the manufacturer and distributor and test results may accordingly be affected by environmental factors and/or user error. The subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the test result.

Warning:
The manufacturers and distributors of this product shall not be liable for any direct, indirect, or consequential losses, liability, claims, costs or damages arising from or related to an incorrect positive or negative diagnosis using this product.

TECHNICAL SUPPORT CONTACT INFORMATION

For further information, please contact your distributor or contact our support specialists:

Region	Phone	E-mail address
Europe & Middle East	+44 161 483 9032	EME.TechSupport@abbott.com
Asia Pacific	+61 7 3363 7100	APTechSupport@abbott.com
Africa	+27 10 500 9700	arcis.techsupport@abbott.com
Russia & CIS	+44 161 483 9032	arcis.techsupport@abbott.com
Latin America	+571 482 4033	LATechSupport@abbott.com
Canada	+1 800 818 8335	Canproductsupport@abbott.com
US	+1 877 441 7440	USproductsupport@abbott.com

FRANÇAIS

À propos de test

[Introduction] Le VRS est le virus respiratoire le plus courant chez le nourrisson et le jeune enfant. Il infecte principalement des enfants de moins de deux ans. Pour la plupart des jeunes enfants, le virus provoque des symptômes qui ressemblent à ceux d'un rhume classique, avec notamment de la fièvre et un écoulement nasal, mais qui peuvent être plus sévères, comme une toux, des difficultés respiratoires et une respiration sifflante. Chez l'enfant prématuré et/ou souffrant de maladies pulmonaires chroniques, le VRS peut provoquer des maladies graves voire engager le pronostic vital. Avant le lancement du Synagis, anticorps monoclonal utilisé pour prévenir les maladies pulmonaires graves dues au VRS, le virus était responsable de plus de 125 000 hospitalisations pédiatriques chaque année. Le risque de mortalité était élevé chez les nourrissons nés prématurés. Les anticorps monoclonaux de souris anti-VRS sélectionnés spécifiquement sont utilisés comme agents de détection dans le test Bioline™ RSV. Ils permettent d'identifier le VRS dans des échantillons obtenus par ANP avec un degré d'exactitude élevé.
[Principe du test] Le test Bioline™ RSV est immobilisé avec un anticorps monoclonal de souris anti-VRS comme matériel de capture et les anticorps spécialement sélectionnés sont utilisés comme matériaux détecteurs. Ils permettent au test Bioline™ RSV d'identifier l'antigène du VRS dans des aspirations nasopharyngées (ANP), avec un taux d'exactitude élevé. Le test Bioline™ RSV engage l'extraction de l'antigène viral du VRS par rupture et exposition des nucléoprotéines virales internes d'aspirations nasopharyngées (ANP) et l'insertion de la bandelette dans le tube de réactif d'extraction. La bandelette du test Bioline™ RSV porte deux lignes pré-entrobées, une ligne de test (« T ») et une ligne de contrôle (« C ») à la surface de la bandelette. Les deux lignes ne sont pas visibles dans la fenêtre de résultat avant application de l'échantillon. La ligne de contrôle sert au contrôle de la procédure. Elle doit toujours apparaître si la procédure de test a été réalisée correctement et si les réactifs de test de la ligne de contrôle fonctionnent. La ligne de test sera visible dans la fenêtre de résultat si suffisamment de VRS dans l'échantillon est présent. Si l'antigène du VRS n'est pas présent dans l'échantillon, aucune couleur n'apparaît au niveau de « T ».
[Usage prévu] Le test rapide Bioline™ RSV est un dosage immunochromatographique pour la détection qualitative du virus respiratoire syncytial (VRS) dans des échantillons obtenus par aspiration nasopharyngienne (ANP). Ce kit est réservé à un usage professionnel et un usage diagnostique in vitro uniquement.

Matériels fournis et principes actifs des principaux composants

1. Le kit de test Bioline™ RSV contient les éléments suivants pour la réalisation du test:
   - 25 bandelettes de test avec dessiccant, emballées dans des pochettes individuelles en aluminium
   - tampon d'extraction (1 x 10 mL/flacon)
   - 25 tubes à essai jetables
   - 50 compte-gouttes jetables
   - 1 mode d'emploi
2. Principes actifs des principaux composants
   1 bandelette de test contient :
   - conjugué or: anticorps monoclonal de souris anti-VRS conjugué à de l'or colloïdal (0,17±0,03 µg)
   - ligne de test: anticorps monoclonal de souris anti-VRS (0,40±0,08 µg)
   - ligne de contrôle: IgG de chèvre anti-souris (0,80±0,16 µg)
   - Le tampon d'extraction contient: Tricine (0,4 M), NaCl (q.s.), Triton™ X-100 (q.s.), Azide de sodium (0,02 %)

Matériels required but not provided

- Gants de protection, minuteur, conteneur pour déchets présentant un danger biologique

Stockage et stabilité du kit

1. La bandelette de test doit être conservée entre 1 et 30 °C. Ne pas congeler le kit, ni ses composants.
2. La bandelette de test est sensible à la chaleur et à l'humidité. Procéder au test immédiatement après avoir retiré la bandelette de sachet en aluminium.
3. Ne pas utiliser le kit ou ses composants au-delà de la date de péremption.
4. La durée de conservation du kit est indiquée sur l'emballage externe.
5. Ne pas utiliser le test si l'emballage individuel est endommagé ou s'il n'est plus hermétique.

Avertissements

1. Le test est destiné uniquement à une utilisation de diagnostic in vitro. Ne pas réutiliser la bandelette de test.
2. Suivre scrupuleusement les instructions pour garantir l'exactitude des résultats. Toute personne voulant réaliser ce test doit être formée et avoir l'expérience nécessaire en matière de procédures de laboratoire.
3. Ne pas manger ou fumer pendant la manipulation des échantillons.
4. Porter des gants de protection lors de la manipulation des échantillons puis bien se laver les mains.
5. Ne pas toucher la membrane interne de la fenêtre de résultat. Cela peut affecter le résultat du test.
6. Eviter les éclaboussures ou la formation d'aérosol des échantillons et du tampon d'extraction.
7. Nettoyer immédiatement tout déversement à l'aide d'un désinfectant approprié.
8. Décontaminer et mettre au rebut tous les échantillons, kits de réaction et matériaux potentiellement contaminés dans un conteneur pour déchets biologiques à risque infectieux.
9. Ne pas mélanger ni échanger différents échantillons.
10. Les composants du kit ne doivent pas être utilisés après la date de péremption indiquée sur l'emballage. Ne pas mélanger ni inter changer les différents paquets / lots de réactifs.
11. Ne buvez pas le tampon d'extraction.
12. Le tampon d'extraction Bioline™ RSV contient un agent antimicrobien exclusif, de l'azide de sodium, qui ne présente pas de danger pour l'utilisateur si les précautions de sécurité du laboratoire sont respectées. Si le tampon d'extraction entre en contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement la zone concernée à l'eau savonneuse. En cas d'irritation ou de signes de toxicité, consulter un médecin.

Prélèvement et manipulation des échantillons

1. Prélèvement des échantillons
   - Le VRS se retrouvé de façon quasi exclusive dans les voies respiratoires.
   - Utiliser un piège à mucus et un cathéter pour prélever un échantillon par ANP.
   - L'utilisation d'un écouvillon nasal n'est pas recommandée en raison de la grande variation des particules de VRS sur l'écouvillon. La précision du test ne sera pas la même avec un écouvillon nasal qu'avec un prélèvement par ANP.
   - Il est fortement recommandé d'éviter d'utiliser des expectorations.
2. Transport et conservation des échantillons
   - L'échantillon obtenu par ANP doit être analysé au plus vite après le prélèvement. Si nécessaire, les échantillons peuvent être stockés entre 2 et 8 °C pendant 48 heures maximum ou à -20 °C pendant 7 jours maximum.

Procédure de test (se référer à l'illustration)

1. Amener la bandelette de test et l'échantillon à une température située entre 15 et 30 °C avant de procéder au test.
2. À l'aide du compte-gouttes jetable fourni, prélever du tampon d'extraction jusqu'au trait (200 - 250 µl) et ajouter le tampon prélevé dans le tube à essai vide fourni.
3. À l'aide d'un autre compte-gouttes jetable fourni, prélever l'échantillon jusqu'au trait (200 - 250 µl) et ajouter l'échantillon prélevé dans le tube à essai contenant le tampon d'extraction de sorte à obtenir un rapport de dilution de 1/2 (1v:1v).
4. Bien mélanger et homogénéiser la solution.
5. Laisser reposer le tube à essai pendant 10 minutes à une température comprise entre 15 et 30 °C.
6. Insérer la bandelette dans le tube à essai, flèches dirigées vers le bas.
7. Ne pas manipuler ou déplacer la bandelette de test ou le tube à essai jusqu'à la lecture du résultat.
8. Lire le résultat du test à la 15e minute; ne pas lire le résultat au-delà de 15 minutes.

Interprétation du test (se référer à l'illustration)

1. Résultat négatif: seule la ligne de contrôle (« C ») apparaît.
2. Résultat positif: la ligne de contrôle (« C ») et la ligne de test (« T ») apparaissent.

⚠ **Attention :** la présence d'une ligne de test, quelle que soit l'intensité de la couleur, indique un résultat considéré comme positif.

3. Résultat non valide: aucune ligne de contrôle (« C ») n'apparaît. Si la ligne de contrôle n'est pas visible dans la fenêtre de résultat ou si seule la ligne de test visible après la réalisation du test, le résultat est considéré comme non valide. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test soit endommagé. Il est recommandé d'analyser à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau kit de test.

Limites du test

1. Le contenu de ce kit doit être utilisé pour la détection qualitative du VRS dans des échantillons obtenus par ANP.
2. Le non-respect de la procédure de test et/ou du mode d'interprétation des résultats peuvent affecter les performances du test et/ou invalider les résultats.
3. Les résultats du test doivent toujours être évalués en association avec les autres données cliniques auxquelles le médecin a accès.
4. Les échantillons obtenus par ANP qui sont prélevés après la phase aiguë d'infection peuvent contenir des titres de l'antigène sous le seuil de sensibilité du réactif. Si le résultat d'un échantillon est négatif malgré les symptômes observés, une culture doit être effectuée afin de rechercher la présence de VRS dans l'échantillon.

Contrôle qualité interne

La bandelette de test Bioline™ RSV comporte une ligne de test (« T ») et a une ligne de contrôle (« C »). Ni la ligne de test ni la ligne de contrôle ne sont visibles dans la fenêtre de résultat avant application de l'échantillon. La ligne de contrôle sert uniquement à vérifier le bon déroulement du test. La présence de la ligne de contrôle indique que le diluant a été correctement appliqué et que les principes actifs des principaux composants de la bandelette sont toujours actifs. Elle ne garantit pas que l'échantillon ait été correctement appliqué et ne peut en aucun cas remplacer un contrôle positif.

Clause de non-responsabilité :
Bien que toutes les précautions soient prises pour assurer le bon fonctionnement et l'exactitude de ce produit, il n'est pas utilisé sous le contrôle du fabricant et du distributeur. Le résultat peut être influencé par des facteurs environnementaux et/ou une erreur d'utilisation. Il est fortement recommandé au patient ayant reçu le diagnostic de consulter un médecin pour confirmer le résultat du test.

Attention :
Le fabricant et le distributeur de ce produit ne peuvent en aucune manière, être tenus pour responsables de toute perte, dommages, litige ou coût, directs, indirects, ou consécutifs, dus à ou liés à un diagnostic positif ou négatif erroné établi en utilisant ce produit.

COORDONNÉES DE L'ASSISTANCE TECHNIQUE

Pour plus d'informations, contactez votre distributeur ou nos spécialistes de l'assistance :

Région	Numéro de téléphone	Adresse e-mail
Europe et Moyen-Orient	+44 161 483 9032	EME.TechSupport@abbott.com
Asie-Pacifique	+61 7 3363 7100	APTechSupport@abbott.com
Afrique	+27 10 500 9700	arcis.techsupport@abbott.com
Russie et CEI	+44 161 483 9032	arcis.techsupport@abbott.com
Amérique latine	+571 482 4033	LATechSupport@abbott.com
Canada	+1 800 818 8335	Canproductsupport@abbott.com
États-Unis	+1 877 441 7440	USproductsupport@abbott.com

ESPAÑOL

Acerca de la prueba

[Introducción] El VSR es el virus respiratorio más común en neonatos y niños pequeños, y a menudo infecta a los niños menores de dos años. En la mayoría de neonatos, el virus causa síntomas parecidos a los del resfriado común, incluida fiebre y secreción nasal, pero puede provocar síntomas más graves, como tos, dificultad para respirar y sibilancias. En los bebés nacidos prematuramente y/o con enfermedad pulmonar crónica, el VSR puede provocar una enfermedad grave o incluso poner su vida en peligro. Antes de la introducción de Synagis, un anticuerpo monoclonal usado para prevenir infecciones pulmonares graves causadas por VSR, el virus era responsable de más de 125 000 hospitalizaciones infantiles cada año. Hubo un alto riesgo de mortalidad en aproximadamente un 2 por ciento de neonatos. En la prueba de Bioline™ RSV se utilizan anticuerpos de ratón monoclonales seleccionados como material detector. Estos permiten que la prueba Bioline™ RSV identifique el antígeno VSR en el aspirado nasofaríngeo con un alto grado de precisión. La prueba Bioline™ RSV implica la extracción del antígeno viral del VSR mediante la interrupción y exposición de las nucleoproteínas virales internas del aspirado nasofaríngeo, y la inserción de la tira reactiva en el tubo del reactivo de extracción. La prueba Bioline™ RSV posee de 2 líneas marcadas previamente, "T" (línea de prueba) y "C" (línea de control) en la superficie de la tira. Las dos líneas de la ventana de resultados no son visibles antes de aplicar una muestra. La línea de control se utiliza para el control del procedimiento. La línea de control debe aparecer siempre si el procedimiento de la prueba se realiza correctamente y si los reactivos de la línea de control de la prueba funcionan. Si hay suficiente antígeno del VSR en la muestra, se podrá ver la línea de prueba en la ventana de resultados. En caso contrario, no aparecerá ninguna línea en "T".
[Uso previsto] La prueba rápida Bioline™ RSV es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa del virus sincitial respiratorio (VSR) en el aspirado nasofaríngeo (ANF). Este kit es solo para uso profesional y solo para uso diagnóstico in vitro.

Materiales suministrados y principios activos de los principales componentes

1. El kit de prueba Bioline™ RSV contiene los siguientes elementos para realizar el ensayo:
   - 25 Tiras de prueba con desecante en bolsas de papel de aluminio individuales
   - Buffer de extracción (1 x 10 ml/vial)
   - 25 Tubos de prueba desechables
   - 50 Cuentagotas desechables
   - 1 Instrucciones de uso
2. Principios activos de los principales componentes
   1 tira de prueba contiene:
   - Conjugado de oro: anticuerpo monoclonal de ratón anti-VRS con oro coloidal (0,17±0,03 µg)
   - Banda de prueba: anticuerpo monoclonal anti-VRS de ratón (0,40±0,08 µg)
   - Banda de control: anticuerpo IgG anti-ratón de cabra (0,80±0,16 µg)
   El buffer de extracción incluye: Tricina (0,4 M), NaCl (g.s.), Triton™ X-100 (g.s.), Azida de sodio (0,02 %)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Guantes de protección, temporizador, contenedor de residuos biológicos peligrosos

Conservación y estabilidad del kit

1. El kit de prueba se debe conservar a una temperatura entre 1 °C y 30 °C. No congele el kit ni sus componentes.
2. La tira de prueba es sensible al calor y la humedad. Realice la prueba inmediatamente después de extraer la tira de prueba de la bolsa de aluminio.
3. No utilice el kit ni sus componentes después de su fecha de caducidad.
4. La vida útil del kit se indica en el exterior del envase.
5. No utilice el kit de prueba si la bolsa está dañada o el sello está roto.

Advertencias

1. Solo para uso diagnóstico in vitro. No reutilice la tira de prueba.
2. Deben seguirse las instrucciones de forma exacta para obtener unos resultados precisos. La persona encargada de realizar el ensayo con este producto deberá conocer los procedimientos y poseer experiencia en técnicas de laboratorio.
3. No coma ni fume durante la manipulación de muestras.
4. Utilice guantes de protección cuando manipule muestras y lávese bien las manos después.
5. No toque la membrana interna de la ventana de resultados con la mano, ya que puede afectar al resultado de la prueba.
6. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles de la muestra y del tampón de extracción.
7. Limpie con cuidado los derrames utilizando un desinfectante apropiado.
8. Descontamine y deseche todas las muestras, kits de reactivos y materiales potencialmente contaminados en un contenedor de residuos biológicos peligrosos, como si fueran residuos infecciosos.
9. No mezcle ni intercambie muestras distintas.
10. Los componentes no deben utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas. No mezcle ni intercambie diferentes lotes de reactivos.
11. No beba el buffer de extracción.
12. El buffer de extracción de Bioline™ RSV contiene un agente antimicrobiano patentado, azida de sodio, que no representa ningún peligro para el usuario si se siguen las precauciones de seguridad normales en un laboratorio. Si el buffer de extracción entra en contacto con los ojos y/o la piel, lave inmediatamente la zona afectada con agua y jabón. Asimismo, si se produce irritación o hay signos de toxicidad, busque atención médica.

Recogida y manipulación de muestras

1. Recogida de muestras
   - El VRS es recuperado casi exclusivamente del tracto respiratorio.
   - Use extractor de moco y catéter para la recolección de la muestra de aspirado nasofaríngeo.
   - El hisopado nasal no es la recomendada como método de recolección de muestras debido a la gran variación de partículas de VSR en el hisopo. Si se utiliza un hisopo nasal, los usuarios no pueden esperar la misma precisión en la prueba que si se usa una muestra de aspirado nasofaríngeo.
   - Se recomienda encarecidamente evitar el uso de esputo.
2. Transporte y Almacenamiento de muestras
   - La muestra de ANF debe ser analizada tan pronto como sea recogida. Si es necesario, las muestras pueden almacenarse hasta 48 horas entre 2 - 8 grados centígrados o hasta 7 días a -20 grados centígrados.
   - Asegúrese de que las muestras no sean tratadas con soluciones que contengan formaldehídos o sus derivados.

Procedimiento de la prueba (consulte la figura)

1. Permita que todos los componentes del kit y las muestras alcancen 15 - 30 °C antes de la prueba.
2. Sirviéndose de un cuentagotas desechable proporcionado, extraiga el tampón de extracción hasta la línea de llenado (200 - 250 µl) y añada el tampón extraído al tubo de ensayo vacío proporcionado.
3. Sirviéndose de otro cuentagotas desechable proporcionado, extraiga la muestra hasta la línea de llenado (200 - 250 µl) y añada la muestra extraída al tubo de ensayo que contiene el tampón de extracción para obtener una relación de dilución 1/2 (1v:1v).
4. Mezcle el contenido totalmente para homogeneizar la solución.
5. Deje que se asiente durante 10 minutos a temperatura ambiente (15 - 30 °C).
6. Coloque la tira de prueba dentro de un tubo con las flechas que se encuentran sobre la tira de prueba a puntando hacia abajo.
7. No manipule o mueva la tira de prueba hasta que la prueba sea completada y esté lista para lectura.
8. Lea los resultados a los 15 minutos. No interprete los resultados después de 15 minutos.

Interpretación de la prueba (consulta la figura)

1. Resultado negativo: Solamente aparece la línea de control (C).
2. Resultado positivo: Aparece la línea de control (C) y la línea de prueba (T).

⚠ **Precaución:** Si aparece cualquier línea de prueba, sin importar la tenue que sea, significa que el resultado de la prueba es positivo.

3. Resultado inválido: No aparece la línea de control (C), indistintamente si aparece o no la línea de prueba (T) después de realizar la prueba. Es posible que las instrucciones no hayan sido seguidas correctamente o que la prueba esté estropeada. Se recomienda volver a analizar la muestra usando un nuevo kit de prueba.

Limitaciones de la prueba

1. El contenido de este kit está diseñado para ser usado en la detección cualitativa del VSR a partir de un ANF.
2. Los fallos en el seguimiento de procedimiento de prueba e interpretación de los resultados de prueba puede afectar adversamente el desempeño de la prueba y / o invalidar los resultados de la prueba.
3. Los resultados de la prueba deben ser evaluados en conjunto con otros datos clínicos disponibles para el médico.
4. Las muestras de ANF que son recogidas después de esta fase de infección aguda pueden contener títulos de anticuerpos inferiores al umbral de sensibilidad del kit. Si una muestra da un resultado negativo y los síntomas clínicos siguen siendo, debe realizar un cultivo para verificar la presencia de VRS en la muestra.

Control de calidad interno

El tira de prueba Bioline™ RSV tiene una banda de prueba (T) y una banda de control (C). Tanto la banda de prueba como la banda de control no son visibles en la ventana de la tira no son visibles antes de aplicar las muestras. La banda de control se usa como control del procedimiento. La banda de control de la prueba indica que el buffer se ha añadido correctamente y que los ingredientes activos de los componentes principales de la tira son funcionales, pero no es una garantía de que la muestra se ha aplicado correctamente y no representa una muestra de control positivo.

Exención de responsabilidad del producto:
Si bien se han tomado todas las precauciones posibles para garantizar la capacidad y la precisión diagnósticas de este producto, este se utiliza fuera del control del fabricante y distribuidor, y en consecuencia puede verse afectado por factores ambientales y/ o un error del usuario. La persona que se someta a este análisis deberá consultar a un médico para obtener una confirmación adicional del resultado de la prueba.

Advertencia:
Los fabricantes y distribuidores de este producto no son responsables de ninguna pérdida, responsabilidad, reclamación, coste o daño directo o indirecto o derivado que surja o esté relacionado con un diagnóstico incorrecto, tanto positivo como negativo, al usar este producto.

INFORMACIÓN DE CONTACTO DEL SERVICIO DE SOPORTE TÉCNICO

Para obtener más información, póngase en contacto con su distribuidor o con nuestros especialistas del servicio de soporte técnico:

Región	Número de teléfono	Dirección de correo electrónico
Europa y Oriente Medio	+44 161 483 9032	EME.TechSupport@abbott.com
Asia Pacífico	+61 7 3363 7100	APTechSupport@abbott.com
África	+27 10 500 9700	arcis.techsupport@abbott.com
Rusia y CEI	+44 161 483 9032	arcis.techsupport@abbott.com
Latinoamérica	+571 482 4033	LATechSupport@abbott.com
Canadá	+1 800 818 8335	Canproductsupport@abbott.com
EE.UU.	+1 877 441 7440	USproductsupport@abbott.com

PORTUGUÊS

Procedimento de teste (consulte a figura)

1. Deixe todos os componentes do kit e a amostra a 15 °C e 30 °C antes de realizar os testes.
2. Utilizando um conta-gotas descartável fornecido, retire a solução tampão de extração até à linha de enchimento (200 - 250 µl) e adicione a solução tampão recolhida ao tubo de ensaio vazio fornecido.
3. Utilizando um outro conta-gotas descartável fornecido, retire a amostra até a linha de enchimento (200 - 250 µl) e adicione a amostra retirada ao tubo de ensaio que contém a solução tampão de extração para obter uma relação de diluição de 1/2 (1v:1v).
4. Misture bem, de modo a que a solução fique homogénea
5. Deixe repousar durante 10 minutos à temperatura ambiente (15 - 30 °C).
6. Coloque a tira de teste no tubo de ensaio com as setas da tira de teste a apontar para baixo.
7. Não manipule nem movimente a tira de teste enquanto o teste não estiver concluído e pronto para ser lido.
8. Leia o resultado passados 15 minutos. Não interprete os resultados passados 15 minutos.

Interpretação do teste (consulte a figura)

1. Resultado negativo: Apenas aparece a linha de controlo (C).
2. Resultado positivo: Aparece uma linha de controlo (C) e uma linha de teste (T).

⚠ **Atenção:** a presença de qualquer linha de teste, independentemente da intensidade desta, significa que o resultado é considerado positivo.

3. Resultado inválido: não aparece uma linha de controlo (C). Se a linha rosa não for visível na janela do resultado ou se só for visível a linha de teste após a realização do teste, o resultado é considerado inválido. As instruções podem não ter sido respeitadas ou o teste pode ter-se deteriorado. Recomenda-se que a amostra volte a ser testada utilizando um novo kit de teste.

Limitações do teste

1. O conteúdo deste kit destina-se a ser utilizado para a detecção qualitativa do VSR a partir de aspirados nasofaríngeos.
2. Se não se seguir o procedimento do teste e as interpretações dos resultados do mesmo, isso pode ter efeitos adversos sobre o desempenho do teste e/ou invalidar o resultado do teste.
3. Os resultados do teste têm de ser avaliados em conjunto com outros dados clínicos disponíveis para o médico.
4. As amostras de ANF recolhidas depois desta fase podem conter títulos de antigénios abaixo do limiar de sensibilidade do reagente. Se for obtido um resultado negativo mesmo com base nos sintomas observados, deve ser iniciada uma cultura para verificar a amostra.

Controlo de qualidade interno

O teste Bioline™ RSV tem uma linha de teste (T) e linha de controlo (C). Tanto as linhas de teste como a linha de controlo não estão na janela de resultados não estão visíveis antes de aplicar quaisquer amostras. A linha de controlo é utilizada para o controlo processual. A linha de controlo deve aparecer sempre que o procedimento de teste for realizado corretamente e se os reagentes da tira ena linha funcional, mas não é uma garantia da amostra ter sido devidamente aplicado e não representa uma amostra positiva de controlo.

Aviso:
Os fabricantes e os distribuidores deste produto não se responsabilizam por quaisquer perdas diretas, indiretas ou consequenciais, responsabilidades, reclamações, custos ou danos resultantes ou relacionados com um diagnóstico incorreto, seja este positivo ou negativo, aquando da utilização do produto.

INFORMAÇÕES DE CONTACTO DO APOIO TÉCNICO

Para obter mais informações, contacte o seu distribuidor ou os nossos especialistas de apoio técnico:

Região	Número de telefone	Endereço de e-mail
Europa e Médio Oriente	+44 161 483 9032	EME.TechSupport@abbott.com
Ásia-Pacífico	+61 7 3363 7100	APTechSupport@abbott.com
África	+27 10 500 9700	arcis.techsupport@abbott.com
Rússia e CEI	+44 161 483 9032	arcis.techsupport@abbott.com
América Latina	+571 482 4033	LATechSupport@abbott.com
Canadá	+1 800 818 8335	Canproductsupport@abbott.com
EUA	+1 877 441 7440	USproductsupport@abbott.com

DEUTSCH

Über den Test

[Einführung] Das RSV ist das bei Säuglingen und Kleinkindern am häufigsten auftretende Atemwegsvirus. Es infiziert überwiegend Kinder unter zwei Jahren. Bei den meisten Kindern ruft das Virus Symptome hervor, die einer normalen Erkältung ähneln, etwa Fieber und eine laufende Nase. Im Verlauf kann es aber zu schwereren Symptomen kommen, wie etwa Husten, Atembeschwerden und Giemen. Bei Frühgeborenen und/oder Kleinkindern mit chronischer Lungenerkrankung kann das RSV eine schwere oder sogar lebensbedrohliche Erkrankung verursachen. Vor der Einführung von Synagis, einem monoklonalen Antikörper, der zur Vorbeugung des RSV verwendet wird, das schwere Lungeninfektionen verhindert, führte das Virus pro Jahr zu mehr als 125 000 Krankenhausaufenthalten bei Kleinkindern. Bei etwa 2 Prozent der Neugeborenen bestand ein hohes Sterblichkeitsrisiko. Im Bioline™ RSV-Test werden speziell ausgewählte monoklonale Anti-RSV-Antikörper von Mäusen als Detektormaterial verwendet. Dadurch kann das Bioline™ RSV-Test das RSV in Nasopharynxaspiraten (NPA) mit hoher Genauigkeit identifizieren.
[Testprinzip] Der Bioline™ RSV-Test wird mit monoklonalen Anti-RSV-Mausantikörpern als Fängersubstanz immobilisiert. Und die speziell ausgewählten Antikörper dienen als Detektormaterial. Der Bioline™ RSV-Test kann somit das RSV-Antigen in nasopharyngealen Aspirat (NPA) mit hoher Genauigkeit nachweisen. Der Bioline™ RSV-Test umfasst die Extraktion des viralen RSV-Antigens durch Disruption und Exposition der internen viralen Nukleoproteine in nasopharyngealen Aspirat (NPA) sowie die Einführung des Teststreifens in das Röhrchen mit Extraktionsreagenz. Der Bioline™ RSV-Teststreifen hat zwei vorgeritzte Linien, "T" (Testlinie) und "C" (Kontrolllinie), die sich auf der Oberfläche des Streifens befinden. Die zwei Linien im Ergebnisfenster sind vor dem Probenauftrag nicht sichtbar. Die Kontrolllinie ist eine Verfahrenskontrolle. Sie sollte immer dann erscheinen, wenn das Testverfahren korrekt durchgeführt wird und die Testreagenzien der Kontrolllinie funktionieren. Die T-Linie ist der Testlinie erscheint im Ergebnisfenster, sobald in der Probe ausreichend RSV-Antigene vorhanden sind. Wenn in der Probe hingegen kein RSV-Antigen vorhanden ist, ist in "T" keine Linie sichtbar.
[Anwendungsbereich] Der Bioline™ RSV-Schnelltest ist ein chromatographischer Immunoassay zum qualitativen Nachweis des Respiratorischen Syncytial-Virus (RSV) in nasopharyngealen Aspirat (NPA). Dieses Kit ist für die Verwendung durch medizinisches Fachpersonal vorgesehen und in der In-vitro-Diagnostik eingesetzt werden.

Im Lieferumfang enthaltene Materialien und aktive Bestandteile der Komponenten

1. Das Bioline™ RSV-Testset enthält die folgenden Komponenten für die Durchführung des Assays:
   - 25 Teststreifen mit Trockenmittel in einzelnen Aluminium-Folienbeuteln
   - Extraktpuffer (1 x 10 ml/Fläschchen)
   - 25 Einweg-Teströhrchen
   - 50 Einweg-Tropfer

DO NOT PRINT FROM THIS FILE - FOR REFERENCE ONLY

TRIM
FOLD
10mm clear trim to text
Gutter width is optional
Non Printing Area Keep Gutter Clear for DATA MATRIX CODE 5mm Min No Text or Graphics in RED Area.
DOCUMENT SIZE: 490 x 329 mm.

FreeStyle

Optium H β-Ketone

Blood β-Ketone Test Strips | Tiras reactivas de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre | Électrodes de dosage de la cétonémie | Strisce per il test della β-chetonemia | Tiras-teste para β-cetona no sangue

English

Intended Use

IVD Individually foil wrapped FreeStyle Optium H Blood β-Ketone Test Strips are for *in vitro* diagnostic use by healthcare professionals in a multi-patient setting with the FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium, and Optium Xceed Meters (not all products are available in all countries). These systems may be used for the quantitative measurement of β-Ketone (beta-hydroxybutyrate) in fresh capillary (i.e., from the finger) and venous whole blood samples. These systems are not for use in diagnosis of diabetes mellitus, but are to be used as an aid in monitoring the effectiveness of diabetes management programmes.

What's in my test strip box?

- Test strips individually wrapped in purple foil packets
- Instructions for use
- Calibrator

Storage and Use

FreeStyle Optium H Blood β-Ketone Test Strips are for single use only. The lot number and expiry date are printed on the back of the foil packet.



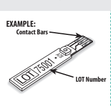
- Store the test strips at temperatures between 4° and 30°C (39° and 86°F). Keep away from direct sunlight and heat. Storage outside this range may cause erroneous results.
- Do not use the test strips beyond the expiry date printed on the foil packet and outer box. If only the year and month are shown, then the expiry date is the last day of the month. For example, "EXP 2014/03" means the test strip expires on March 31, 2014.
- Use the test strip immediately after opening the foil packet.
- Do not use wet, bent, scratched or damaged test strips.
- Use the test strip only once and then discard.
- Do not use the test strip if the foil packet has a puncture or tear.
- Use FreeStyle Optium H Blood β-Ketone Test Strips only with the FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium and Optium Xceed Meters.

Calibration

The calibration procedure programs the meter with the lot number and test strip technology. This procedure requires the calibrator supplied with this test strip package and a FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium or Optium Xceed Meter, available separately. Please refer to the meter's User's Operator's Manual for detailed calibration procedures.

IMPORTANT: Always calibrate the meter with each new box of test strips. Failure to calibrate properly will cause incorrect results.

1. With the lot number facing toward you, insert the contact bars of the purple calibrator into the meter. The meter turns on automatically.



2. The lot number will appear in the display window with the following symbols:
   - Optium Xceed and FreeStyle Optium H displays **CODE**.
   - FreeStyle Optium Neo H displays **KET** and **Lot**.
   - Optium displays **Ketone** first and then **LOT**.
3. Check that the lot number on the meter display window matches with the number on the test strip calibrator and the first five digits on both the test strip foil packet and test strip instructions for use. Calibration is complete.

Note: Use only the calibrator supplied with the test strips. Keep the calibrator until all the test strips in the box have been used. When the box is empty, throw the calibrator away.

Sample Collection and Preparation

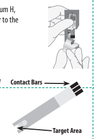
FreeStyle Optium H Blood β-Ketone Test Strips are designed for use with fresh whole blood samples. The minimum sample volume is 1.5 µL.

Before obtaining a fingertip blood sample, clean and dry the sample site completely. If possible hang the arm down before lancing the finger to increase the blood flow. Use the sample immediately.

Venous whole blood samples may be collected into sodium or lithium heparin tubes or EDTA tubes and used within 30 minutes. Do not use tubes containing fluoride or oxalate.

Testing Blood β-Ketone

This procedure requires a FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium or Optium Xceed Meter, available separately. Please refer to the meter User's/Operator's Manual for detailed testing procedures.



1. Clean and dry the sample site completely.
2. Open the test strip packet by tearing at the notch.
3. Insert the contact bars into the test port.
4. Push the test strip into the test port until it stops. Check that the lot number which appears in the display window matches the first 5 digits of the lot number on the test strip foil packet.
5. Lance the finger to obtain a drop of blood.
6. Touch blood drop to white target area at tip of test strip while the Apply Sample prompt appears in the display window.
7. Hold finger in place until test begins.
8. Test will start when sample is detected.

IMPORTANT: If the test fails to start, a second drop may be applied within 30 seconds of the first blood drop. If the test fails to start again or if more than 30 seconds have passed, repeat with new strip.

9. There is a 10-second countdown before the blood β-Ketone result is displayed.
10. Dispose of the test strip correctly. The opened foil packet may be used to remove and discard the used test strip.

Refer to the User's/Operator's Manual for detailed testing procedures.

Meter Test Messages

The following messages may mean there is a blood β-Ketone result that requires immediate attention or there may be a problem with the test strip:

- **HI** means your meter has determined that your blood β-Ketone result is higher than 8.0 mmol/L.
- **Test Error 2** or **Test Error 4** (Optium Meter) or **E-3** or **E-4** (FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H and Optium Xceed Meters) means there may be a test error.

If any of these messages show, repeat the test with a new test strip. You may also perform a control solution test to check the performance of your system. Consult the prescribing physician before making any changes to diabetes medication programme plans.

Expected Results for Non-Diabetic, Non-Pregnant Adults

The blood β-Ketone test measures β-hydroxybutyrate (β-OHB), the most important of the three ketone bodies in the blood[1]. Normally, levels of β-OHB are expected to be less than 0.6 mmol/L[1]. β-OHB levels may increase if a person fasts, exercises vigorously or has diabetes and becomes ill[1].

If the blood β-Ketone result is 0.0 mmol/L and the blood glucose result is 300 mg/dL (16.7 mmol/L) or higher, or the results are not consistent with physical symptoms, repeat both the ketone and the glucose tests with new test strips.

If the blood β-Ketone result is between 0.6 and 1.5 mmol/L and the blood glucose result is 300 mg/dL (16.7 mmol/L) or higher, this may indicate development of a problem that could require medical intervention.

If the blood β-Ketone result is higher than 1.5 mmol/L and the blood glucose result is 300 mg/dL (16.7 mmol/L) or higher, this may indicate the risk of developing diabetic ketoacidosis (DKA)[2-4].

Limitations of Procedure

Note: This test strip has not been evaluated for arterial and neonatal samples, or for alternative site testing.

- This test strip is not designed for use with serum or plasma samples.
- Use between 18° and 30°C (64° and 86°F) and 10% and 90% relative humidity for best results.
- Testing demonstrates that altitudes up to 2,195 metres (7,200 feet) above sea level do not affect results.
- Haematocrit range is 30%–60%.
- Test Results may be erroneously low if the patient is severely dehydrated, or severely hypotensive, in shock or in a hyperglycaemic-hyperosmolar state.

Quality Control

Use MediSense Glucose and Ketone Control Solutions to do a quality control check to verify the performance of the meter and test strips with each new test strip lot number, or when you question the results. In a multi-user setting, daily quality control testing is recommended to ensure the system is operating properly. Control results must be within the "Expected Results with Control Solutions" shown below on these instructions for use. Please refer to the meter User's/Operator's Manual for detailed instructions. Please contact your local Abbott Diabetes Care office or distributor to obtain control solutions.

Test Principle

When the blood sample is applied to the test strip, the β-hydroxybutyrate (β-OHB) in the blood reacts with the chemicals on the test strip, producing a small electrical current. This current is measured and then a result is displayed by the meter. The size of the current depends on the amount of β-OHB in the blood sample.

Reagents

The reagent area of each test strip contains:

β-Hydroxybutyrate Dehydrogenase (*Pseudomonas sp*)	≥ 0.03 U
NAD (Free acid form)	≥ 1.67 µg
Phenanthroline quinone	≥ 0.29 µg
Non-reactive ingredients	≥ 19.51 µg

Performance Characteristics

Performance of the test strip has been evaluated in laboratory and clinical studies.

Assay Range:	0.0–8.0 mmol/L
Sample Volume:	1.5 µL
Test Time:	10 seconds

Calibration Reference

The FreeStyle Optium H Blood β-Ketone Test Strip is calibrated to reflect plasma β-hydroxybutyrate (β-OHB) using the Randox assay kit (RB1007).

Precision

Precision testing shows that results typically vary by no more than 3.1% to 3.8%. Results were obtained in a laboratory study using venous whole blood samples (n = 20 per level). Please refer to Table 1 at the end of these instructions for use for study results.

Specificity

Systems exhibit no interference from the following substances above therapeutic levels: Acetaminophen, ascorbic acid, dopamine, ephedrine, ibuprofen, L-dopa, maltose, methyldopa, salicylate, tetracycline, tolazamide and tolbutamide.

Accuracy

Accuracy testing shows that results are comparable between trained operators and lay users. Accuracy was assessed at four hospitals by comparing whole blood β-OHB results with plasma results obtained using a reference laboratory instrument. Please refer to Table 2 at the end of these instructions for use for study results.

These studies show that blood β-Ketone test strip results compare well with laboratory method results.

Table 1 - Precision

	Low	Mid	High
Mean, mmol/L	0.34	2.36	6.32
SD, mmol/L	0.03	0.09	0.2
CV, %	—	3.8	3.1

Table 2 - Accuracy

No. of tests	288
Ketone Range, mmol/L	0.07–5.2
Slope	1.06
Intercept, mmol/L	0.07
r (corr. coef.)	0.98

Español

Uso previsto

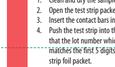
IVD Las tiras reactivas de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre FreeStyle Optium H, empaquetadas en envases de aluminio individuales, son para el uso diagnóstico *in vitro* por parte de los profesionales sanitarios en un entorno de múltiples pacientes con los medidores FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium y Optium Xceed (no todos los productos se comercializan en todos los países). Estos sistemas pueden ser utilizados para la medición cuantitativa de los cuerpos cetónicos (beta-hidroxibutirato) en muestras de sangre capilar reciente (por ejemplo, de los dedos) y muestras de sangre venosa entera. Estos sistemas no están concebidos para utilizarse en el diagnóstico de la diabetes mellitus, sino para facilitar la comprobación de la eficacia de los programas de tratamiento de la diabetes.

¿Qué hay en mi caja de tira reactiva?

- Tiras reactivas empaquetadas individualmente en envases de aluminio de color morado
- Instrucciones de uso
- Calibrador

Conservación y uso

Las tiras reactivas de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre FreeStyle Optium H son para un solo uso. El número de lote y la fecha de caducidad están impresos en la parte posterior del envase de aluminio.



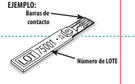
- Conserve las tiras reactivas a temperaturas de entre 4 °C y 30 °C (entre 39 °F y 86 °F). Mantenga el producto protegido de la luz solar directa y del calor. La conservación a temperaturas que estén fuera de este rango puede producir resultados erróneos.
- No utilice las tiras reactivas después de la fecha de caducidad impresa en el envase de aluminio y la caja exterior. Si sólo se muestran el año y el mes, la fecha de caducidad es el último día del mes. Por ejemplo, «EXP 2014/03» significa que la tira reactiva caduca el 31 de marzo 2014.
- Utilice la tira reactiva inmediatamente después de abrir el envase de aluminio.
- No utilice tiras reactivas mojadas, dobladas, rayadas o dañadas.
- Utilice la tira reactiva solamente una vez y deséchela tras su uso.
- No utilice la tira reactiva si el envase de aluminio está perforado o rasgado.
- Utilice las tiras reactivas para cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre FreeStyle Optium H sólo con los medidores FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium y Optium Xceed.

Calibración

El procedimiento de calibración programa el medidor con el número de lote y la tecnología de tiras reactivas. Este procedimiento requiere el calibrador suministrado con este envase de tiras reactivas y un medidor FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium u Optium Xceed, que se comercializan por separado. Consulte el Manual del usuario/operador del medidor para obtener información detallada sobre los procedimientos de calibración.

IMPORTANTE: Calibre siempre el medidor con cada caja nueva de tiras reactivas. Si no se calibra adecuadamente el sistema, se obtendrán resultados incorrectos.

1. Con el número de lote mirando hacia usted, introduzca las barras de contacto del calibrador de color morado en el medidor. El medidor se enciende automáticamente.



2. El número de lote aparece en la ventana de la pantalla junto con los siguientes símbolos:
   - Optium Xceed y FreeStyle Optium H muestran **CODE**.
   - FreeStyle Optium Neo H muestra **KET** y **Lot**.
   - Optium muestra primero **Ketone** y luego **LOT**.
3. Compruebe que el número de lote que aparece en la ventana de la pantalla del medidor coincida con el número que figura en el calibrador de tiras reactivas, y con los primeros cinco dígitos de las instrucciones de uso de las tiras reactivas y del envase de aluminio de las tiras reactivas. La calibración ha finalizado.

Nota: Utilice solamente el calibrador suministrado con las tiras reactivas. Conserve el calibrador hasta que se hayan utilizado todas las tiras reactivas de la caja. Cuando la caja esté vacía, deseche el calibrador.

Recolección y preparación de muestras

Las tiras reactivas de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre FreeStyle Optium H se han diseñado para su uso con muestras de sangre entera recientes. El volumen de muestra mínimo es de 1,5 µL.

Antes de obtener una muestra de sangre de la punta de un dedo, limpie y seque por completo el lugar en el que se vaya a tomar la muestra. Si es posible, antes de pinchar el dedo, deje el brazo colgando hacia abajo para que aumente el flujo sanguíneo. Utilice la muestra inmediatamente.

Las muestras de sangre venosa entera se pueden recoger en tubos de heparina de sodio o litio o tubos de EDTA y utilizar dentro de los 30 minutos. No utilice tubos que contengan fluoruro u oxalato.

Pruebas de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre

Este procedimiento requiere un medidor FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium u Optium Xceed, que se comercializan por separado. Consulte el Manual del usuario/operador del medidor para obtener información detallada sobre los procedimientos de análisis.



1. Limpie y seque por completo el lugar en el que se vaya a obtener la muestra.
2. Abra el envase de tiras reactivas por la muestca.
3. Introduzca las barras de contacto en el puerto de prueba.
4. Introduzca la tira reactiva en el puerto de prueba hasta el tope. Compruebe que el número de lote que aparece en la ventana de la pantalla coincida con los primeros 5 dígitos del número de lote que figura en el envase de aluminio de las tiras reactivas.
5. Pinche el dedo para obtener una gota de sangre.
6. Ponga en contacto la gota de sangre con el área válida blanca de la punta de la tira mientras en la ventana de la pantalla aparece el mensaje aplicar muestra.
7. Mantenga el dedo en posición hasta que empiece la prueba.
8. La prueba comenzará cuando se detecte la muestra.

IMPORTANTE: Si la prueba falla al empezar, se puede aplicar una segunda gota en los 30 segundos después de la primera gota de sangre. Si la prueba sigue sin iniciarse o si han pasado más de 30 segundos, repítalo con una nueva tira.

9. Habrá una cuenta atrás de 10 segundos antes de que aparezca el resultado de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre.
10. Deseche adecuadamente la tira reactiva. El envase de aluminio abierto puede utilizarse para retirar y desechar la tira reactiva usada.

Consulte el Manual del usuario para obtener información detallada sobre los procedimientos de análisis.

Mensajes de prueba del medidor

Los siguientes mensajes pueden indicar que hay un resultado de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre que requiere atención inmediata o que puede haber un problema con la tira reactiva:

- **HI (ALTO)** significa que su medidor ha determinado que el resultado de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre es mayor de 8,0 mmol/L.
- **Test Error 2** (Error de la prueba 2) or **Test Error 4** (Error de la prueba 4) (Medidor Optium) o **E-3** o **E-4** (medidores FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H y Optium Xceed) indica que puede haber un error de la prueba.

Si se muestran cualquiera de estos mensajes, repita la prueba con una nueva tira reactiva. También puede realizar una prueba con solución de control para comprobar el rendimiento del sistema. Consulte al médico que prescribió el análisis antes de introducir cambios en los planes del programa de medicación para la diabetes.

Resultados esperados en adultos no diabéticos y no embarazadas

La prueba de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre mide el β-hidroxibutirato (β-HB), el cuerpo cetónico más importante de los tres que hay en sangre[1]. Normalmente se espera que las concentraciones de β-HB sean menores de 0,6 mmol/L[1]. Las concentraciones de β-HB pueden aumentar si la persona ayuna, hace ejercicio enérgico o tiene diabetes y se pone enfermo[1].

Si el resultado de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre es 0,0 mmol/L y el resultado de glucosa en sangre es 300 mg/dL (16,7 mmol/L) o mayor, o los resultados no son coherentes con los síntomas físicos, repita tanto las pruebas de cuerpos cetónicos como las de glucosa con nuevas tiras reactivas.

Si el resultado de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre está entre 0,6 y 1,5 mmol/L y el resultado de glucosa en sangre es 300 mg/dL (16,7 mmol/L) o mayor, esto indica el desarrollo de un problema que podría requerir la intervención médica.

Si el resultado de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre es mayor de 1,5 mmol/L y el resultado de glucosa en sangre es de 300 mg/dL (16,7 mmol/L) o mayor, esto puede indicar el riesgo de desarrollar cetoacidosis diabética (CAD)[2-4].

Limitaciones del procedimiento

Nota: Esta tira reactiva no ha sido evaluada para muestras arterial o neonatal, ni para pruebas en zonas alternativas.

- Las tiras reactivas no se han diseñado para su uso con muestras de suero o plasma.
- Para obtener resultados óptimos utilice entre 18 °C y 30 °C (entre 64 °F y 86 °F), y entre un 10 % y un 90 % de humedad relativa.
- Las pruebas demuestran que las altitudes de hasta 2.195 metros por encima del nivel del mar no afectan a los resultados.
- Rango de hematocritos es 30 %–60 %.
- Los resultados de la prueba pueden ser erróneamente bajos si el paciente está gravemente deshidratado, sufre hipotensión grave, está en estado de shock o está en estado hiperglucémico hiperosmolar (con ó sin cetosis).

Control de calidad

Use las soluciones de control de glucosa y cuerpos cetónicos MediSense para realizar un control de calidad a fin de verificar el rendimiento del medidor y de las tiras reactivas con cada nuevo número de lote de tiras reactivas o cuando crea cuestionables los resultados. En entornos multiusuario se recomienda realizar pruebas de control de calidad diarias para comprobar que el sistema está funcionando correctamente. Los resultados de los controles deben encontrarse dentro de los «Resultados esperados con soluciones de control» indicados más adelante en estas instrucciones de uso. Consulte el Manual del usuario/operador del medidor para obtener instrucciones detalladas. Póngase en contacto con su oficina local de Abbott Diabetes Care o con su distribuidor de Abbott para obtener soluciones de control.

Principio de la prueba

Cuando la muestra de sange se aplica a la tira reactiva, el β-hidroxibutirato (β-HB) en la sange reacciona con los productos químicos de la tira reactiva y produce una pequeña corriente eléctrica. Esta corriente se mide y, a continuación, el medidor muestra un resultado. La magnitud de la corriente depende de la cantidad de β-HB de la muestra de sangre.

Reactivos

La zona reactiva de cada tira contiene:

β-Hidroxibutirato deshidrogenasa (*Pseudomonas sp*)	≥ 0,03 U
NAD (forma de ácido libre)	≥ 1,67 µg
Fenantrolina quinona	≥ 0,29 µg
Ingredientes no reactivos	≥ 19,51 µg

Características de rendimiento

El rendimiento de la tira reactiva se ha evaluado en estudios de laboratorio y clínicos.

Rango del análisis:	0,0–8,0 mmol/L
Volumen de muestra:	1,5 µL
Duración de la prueba:	10 segundos

Referencia de la calibración

La tira reactiva de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre FreeStyle Optium H se calibra para reflejar el β-hidroxibutirato (β-HB) en plasma con el kit de ensayo Randox (RB1007).

Precisión

Esta prueba de precisión indica que la variación de los resultados no suele ser superior a un 3,1 %–3,8 %. Los resultados se obtuvieron en un estudio de laboratorio con muestras de sange venosa entera (n = 20 por concentración). Consulte la tabla 1 al final de estas instrucciones de uso para ver los resultados del estudio.

Especificidad

Los sistemas no muestran interferencia de las siguientes sustancias por encima de los niveles terapéuticos: paracetamol, ácido ascórbico, dopamina, efedrina, ibuprofeno, levodopa, maltosa, metildopa, salicilato, tetraciclina, tolazamida y tolbutamida.

Exactitud

La prueba de exactitud muestra que los resultados son comparables entre los operadores formados y los usuarios inexpertos. La exactitud fue evaluada en cuatro hospitales comparando los resultados de β-HB en sangre entera con los resultados plasmáticos obtenidos utilizando un instrumento de laboratorio de referencia. Consulte la tabla 2 al final de estas instrucciones de uso para ver los resultados del estudio.

Estos estudios demuestran que los resultados de tiras reactivas de cuerpos cetónicos (β-HB) en sangre se comparan bien con los resultados del método de laboratorio.

Tabla 1 - Precisión

	Bajo	Medio	Alto
Medio, mmol/L	0,34	2,36	6,32
DE, mmol/L	0,03	0,09	0,2
CV, %	—	3,8	3,1

Tabla 2 - Exactitud

N.º de pruebas	288
Rango de cuerpos cetónicos, mmol/L	0,07–5,2
Pendiente	1,06
Ordenada en el origen, mmol/L	0,07
r (coef. de corr.)	0,98

Français

Utilisation prévue

IVD Les électrodes de dosage de la cétonémie FreeStyle Optium H sous sachet en aluminium individuel sont réservées à un usage diagnostique *in vitro* par des professionnels de santé dans le cadre d'une utilisation partagée avec les lecteurs FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium et Optium Exceed (certains de ces produits ne sont pas disponibles dans tous les pays). Ces systèmes peuvent être utilisés pour le dosage quantitatif de la cétonémie (beta-hydroxybutyrate) dans des échantillons de sang total frais capillaires (c.-à-d. prélevés au doigt) et veineux. Ces systèmes ne sont pas destinés à être utilisés pour le diagnostic du diabète sucré, mais en tant qu'aides à la surveillance de l'efficacité des programmes de traitement du diabète.

Que contient la boîte d'électrodes de dosage ?

- Des électrodes de dosage sous sachet en aluminium violet individuel
- Mode d'emploi
- Étalonneur

Conservation et utilisation

Les électrodes de dosage de la cétonémie FreeStyle Optium H sont réservées à un usage unique. Le numéro de lot et la date de péremption sont imprimés au dos du sachet en aluminium.



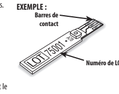
- Conserver les électrodes de dosage à une température comprise entre 4 °C et 30 °C (39 °F et 86 °F). Conserver à l'abri de la chaleur et de la lumière solaire directe. Une conservation en dehors de ces conditions peut entraîner des résultats erronés.
- Ne pas utiliser les électrodes de dosage au-delà de la date de péremption imprimée sur le sachet en aluminium et sur la boîte. Si seuls l'année et le mois sont indiqués, la date de péremption est le dernier jour du mois. Par exemple, « EXP 2014/03 » signifie que l'électrode de dosage sera périmée le 31 mars 2014.
- Utiliser l'électrode de dosage immédiatement après l'ouverture du sachet en aluminium.
- Ne pas utiliser des électrodes de dosage mouillées, tordues, rayées ou abîmées.
- Utiliser chaque électrode de dosage une seule fois puis la jeter.
- Ne pas utiliser l'électrode de dosage si le sachet en aluminium est percé ou déchiré.
- Utiliser les électrodes de dosage de la cétonémie FreeStyle Optium H uniquement avec les lecteurs FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium et Optium Xceed.

Étalonnage

La procédure d'étalonnage programme le lecteur avec le numéro de lot et la technologie de l'électrode de dosage. Cette procédure requiert l'étalonneur fourni dans cette boîte d'électrodes de dosage et un lecteur FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium ou Optium Xceed, disponible séparément. Consulter le manuel d'utilisation du lecteur pour des procédures d'étalonnage détaillées.

IMPORTANT : Toujours étalonner le lecteur chaque fois qu'une nouvelle boîte d'électrodes de dosage est utilisée. Un étalonnage incorrect produit des résultats erronés.

1. Insérer les barres de contact de l'étalonneur violet dans le lecteur, avec le numéro de lot tourné vers vous. Le lecteur s'allume automatiquement.



2. Le numéro de lot s'affiche sur l'écran avec les symboles suivants :
   - Optium Xceed et FreeStyle Optium H affichent **CODE**.
   - FreeStyle Optium Neo H affiche **KET** et **Lot**.
   - Optium affiche **Ketone** d'abord et puis **LOT**.
3. Vérifier la concordance du numéro de lot sur l'écran du lecteur avec le numéro sur l'étalonneur des électrodes de dosage et les cinq premiers chiffres sur le sachet en aluminium de l'électrode de dosage et le mode d'emploi des électrodes de dosage. L'étalonnage est terminé.

Remarque : Utiliser uniquement l'étalonneur fourni avec les électrodes de dosage. Conserver l'étalonneur jusqu'à ce que toutes les électrodes de dosage de la boîte aient été utilisées. Quand la boîte est vide, jeter l'étalonneur.

Préparation et prélèvement des échantillons

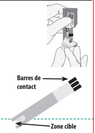
Les électrodes de dosage de la cétonémie FreeStyle Optium H sont prévues pour être utilisées avec des échantillons de sang total frais. Le volume d'échantillon minimum est de 1,5 µL.

Avant de prélever l'échantillon de sang (par piqûre) au bout du doigt, laver et sécher parfaitement le site de prélèvement. Si possible laisser pendre le bras avant de piquer le doigt pour accroître le flux sanguin. Utiliser l'échantillon immédiatement.

Des échantillons de sang total veineux peuvent être prélevés dans des tubes contenant de l'héparine de sodium ou de l'héparine de lithium ou des tubes EDTA et utilisés dans les 30 minutes. Ne pas utiliser de tubes contenant du fluorure ou de l'oxalate.

Mesure de la cétonémie

Cette procédure requiert un lecteur FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium ou Optium Xceed, disponible séparément. Consulter le manuel d'utilisation du lecteur pour plus d'informations sur les procédures de test.



1. Laver et sécher parfaitement le site de prélèvement.
2. Ouvrir le sachet de l'électrode de dosage en le déchirant au niveau de l'encoche.
3. Insérer les barres de contact dans le port d'insertion.
4. Insérer l'électrode de dosage dans le port d'insertion jusqu'à ce qu'elle bute. Vérifier la concordance du numéro de lot qui s'affiche sur l'écran et les 5 premiers chiffres du numéro de lot sur le sachet en aluminium de l'électrode de dosage.
5. Piquer le doigt afin d'obtenir une goutte de sang.
6. Poser la goutte de sang au niveau de la zone de dépôt blanche à l'extrémité de l'électrode de dosage quand l'invite Appliquer échantillon s'affiche sur l'écran.
7. Maintenir le doigt en place jusqu'au démarrage du test.
8. Le test démarre lorsque l'échantillon est détecté.

IMPORTANT : Si le test ne démarre pas, une deuxième goutte peut être déposée dans les 30 secondes suivant l'application de la première goutte de sang. Si le test ne démarre toujours pas, ou si plus de 30 secondes se sont écoulées, répéter le test avec une nouvelle électrode de dosage.

9. Le lecteur lance un compte à rebours de 10 secondes avant d'afficher le résultat de la cétonémie.
10. Éliminer l'électrode de dosage comme il convient. Le sachet en aluminium ouvert peut être utilisé pour retirer et jeter l'électrode de dosage usagée.

Consulter le manuel d'utilisation pour plus d'informations sur les procédures de test.

Messages de test du lecteur

Les messages suivants peuvent indiquer qu'un résultat de cétonémie nécessite une attention immédiate ou qu'il existe un problème avec l'électrode de dosage :

- **HI** (HAUT) signifie que le lecteur a déterminé que le résultat de cétonémie est supérieur à 8,0 mmol/L.
- **Test Error 2** ou **Test Error 4** (lecteur Optium) ou **E-3** ou **E-4** (lecteurs FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H et Optium Xceed) signifient la possibilité d'une erreur de test.

Si l'un de ces messages s'affiche, répéter le test avec une nouvelle électrode de dosage. Il est également possible d'effectuer un dosage à l'aide de la solution de contrôle pour vérifier les performances du système. Consulter le médecin prescripteur avant de modifier un traitement du diabète.

Résultats attendus pour les adultes non diabétiques et pour les femmes non enceintes

Le test de la cétonémie mesure le taux de β-hydroxybutyrate (β-OHB), le plus important des trois corps cétoniques dans le sang[1]. En temps normal, le taux de β-OHB est sensé être inférieur à 0,6 mmol/L[1]. Le taux de β-OHB peut augmenter si le sujet est à jeun, fait de l'exercice physique intense ou est diabétique et tombe malade[1,2].

Si le résultat de cétonémie est 0,0 mmol/L et le résultat de glycémie est 300 mg/dL (16,7 mmol/L) ou plus, ou que les résultats ne correspondent pas aux symptômes physiques, répéter le test de la cétonémie et de la glycémie avec des nouvelles électrodes de dosage.

Si le résultat de cétonémie est entre 0,6 et 1,5 mmol/L et le résultat de glycémie est 300 mg/dL (16,7 mmol/L) ou plus, ceci peut indiquer le développement d'un problème nécessitant une assistance médicale.

Si le résultat de cétonémie est supérieur à 1,5 mmol/L et le résultat de glycémie est 300 mg/dL (16,7 mmol/L) ou plus, ceci peut indiquer un risque de développement d'une acidocétose diabétique (ACD)[2-4].

Limites de la procédure

Remarque : Cette électrode de dosage n'a pas été évaluée pour les échantillons de sang artériel ou néonatal, ni pour d'autres sites de prélèvement.

- Cette électrode de dosage n'est pas conçue pour être utilisée avec des échantillons de sérum ou de plasma.
- Pour des résultats optimaux, utiliser à une température comprise entre 18 °C et 30 °C (64 °F et 86 °F) et à une humidité relative comprise entre 10 % et 90 %.
- Des tests montrent que les résultats ne sont pas affectés par des altitudes allant jusqu'à 2 195 mètres au-dessus du niveau de la mer.
- La plage d'hématocrite est de 30 % à 60 %.
- Les résultats de mesure peuvent être faussement bas si le patient est gravement déshydraté, hypotendu, en état de choc ou s'il présente un syndrome hyperosmolaire hyperglycémique.

Contrôle qualité

Utiliser les solutions de contrôle de la glycémie et de la cétonémie MediSense pour effectuer un contrôle qualité, afin de vérifier les performances du lecteur et des électrodes de dosage avec chaque nouveau numéro de test, ou lorsque les résultats sont douteux. Dans le cadre d'une utilisation partagée , il est recommandé d'effectuer quotidiennement un test de contrôle qualité afin de s'assurer que le système fonctionne de manière adéquate. Les résultats doivent être compris dans la plage des « Résultats attendus avec les solutions de contrôle », indiquée à la fin de ce mode d'emploi. Consulter le manuel d'utilisation du lecteur pour des instructions détaillées. Pour obtenir des solutions de contrôle, contacter le bureau régional d'Abbott Diabetes Care ou votre distributeur local.

Principe du test

Lorsque l'échantillon de sang est déposé sur l'électrode de dosage, le β-hydroxybutyrate (β-OHB) présent dans le sang réagit avec les substances chimiques de l'électrode de dosage et produit un faible courant électrique. Ce courant est mesuré et le lecteur affiche alors le résultat. L'intensité du courant dépend de la quantité de β-OHB présente dans l'échantillon de sang.

Réactifs

La zone des réactifs de chaque électrode de dosage comporte :

β-hydroxybutyrate déshydrogénase (*Pseudomonas sp*)	≥ 0,03 U
NAD (forme acide libre)	≥ 1,67 µg
Phénanthroline quinone	≥ 0,29 µg
Ingrédients non réactifs	≥ 19,51 µg

Caractéristiques de fonctionnement

Les performances de l'électrode de dosage ont été évaluées en laboratoire ainsi qu'au cours d'essais cliniques.

Plage des dosages :	0,0–8,0 mmol/L
Volume d'échantillon :	1,5 µL
Durée de test :	10 secondes

Référence d'étalonnage

Les électrodes de dosage de la cétonémie FreeStyle Optium H sont étalonnées pour refléter le β-hydroxybutyrate (β-OHB) plasmatique à l'aide du kit de dosage Randox (RB1007).

Précision

Des essais de précision montrent que les résultats ne varient généralement pas de plus de 3,1 % à 3,8 %. Les résultats ont été obtenus dans une étude de laboratoire en utilisant des échantillons de sang total veineux (n = 20 par niveau). Consulter le tableau 1 à la fin de ce mode d'emploi pour connaître les résultats de l'étude.

Spécificité

Les systèmes n'exhibent aucune interférence avec les substances suivantes au-dessus des niveaux thérapeutiques : acétaminophène, acide ascorbique, dopamine, éphédrine, ibuprofène, L-dopa, maltose, méthyldopa, salicylate, tétracycline, tolazamide et tolbutamide.

Exactitude

Des essais d'exactitude montrent que les résultats obtenus par les techniciens formés et les utilisateurs grand public sont comparables. L'exactitude a été évaluée dans quatre hôpitaux en comparant les résultats pour le β-OHB obtenus dans du sang total aux résultats obtenus dans du plasma en utilisant un appareil de laboratoire de référence. Consulter le Tableau 2 à la fin de ce mode d'emploi pour connaître les résultats de l'étude.

Ces études montrent que les résultats obtenus avec les électrodes de dosage de la cétonémie sont tout à fait comparables aux résultats obtenus par la méthode de laboratoire.

Tableau 1 - Précision

	Basse	Moyenne	Haut
Moyenne, mmol/L	0,34	2,36	6,32
E-T, mmol/L	0,03	0,09	0,2
CV, %	—	3,8	3,1

Tableau 2 - Exactitude

Nbre de tests	288
Plage des cétones, mmol/L	0,07–5,2
Pente	1,06
Ordonnée à l'origine, mmol/L	0,07
r (coeff. de corr.)	0,98

Italiano

Uso previsto

IVD Le strisce per il test della β-chetonemia FreeStyle Optium H confezionate singolarmente in involucri protettivi sono per uso diagnostico *in vitro*, da parte di personale sanitario in ambienti multi-paziente, con i misuratori FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium e Optium Xceed (non tutti i prodotti sono disponibili in tutti i Paesi). Questi sistemi possono essere utilizzati per la misurazione quantitativa dei β-chetoni (beta-idrossibutirato) nei campioni freschi di sangue intero capillare (ad es. ottenuto dal dito) e nei campioni di sangue intero venoso. Questi sistemi non devono essere usati per la di

TRIM
FOLD
10mm clear trim to text
Non Printing Area Keep Gutter Clear for DATA MATRIX CODE 5mm Min No Text or Graphics in RED Area.
Gutter Width is Optional
DOCUMENT SIZE: 490 x 329 mm.
2pt 10% Black rule across page.

IMPORTANTE – Se il test non si avvia, applicare una seconda goccia di sangue entro 30 secondi dall'applicazione della prima. Se il test ancora non si avvia o se sono trascorsi più di 30 secondi, ripetere con una nuova striscia.

9. I risultati della β-chetonemia vengono visualizzati dopo un conto alla rovescia di 10 secondi.
10. Smaltire le strisce in modo adeguato. Per rimuovere ed eliminare la striscia usata utilizzare l'involucro protettivo aperto.

Per informazioni dettagliate sulle procedure analitiche, consultare il Manuale d'uso/per l'operatore.

Messaggi relativi al test del misuratore
I messaggi seguenti potrebbero indicare che un risultato di β-chetonemia richiede attenzione immediata o l'esistenza di un problema con la striscia:

- **HI** (ALTO) indica che il misuratore ha ottenuto un risultato del test della β-chetonemia maggiore di 8,0 mmol/L.
- **Test Error 2** (l'errore test 2) o **Test Error 4** (l'errore test 4) (misuratore Optium) oppure **E-3** o **E-4** (misuratori FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H e Optium Xceed) indicano che può essersi verificato un errore nel test.

Qualora venisse visualizzato uno di questi messaggi, è necessario ripetere il test con una nuova striscia. È inoltre possibile eseguire un test con la soluzione di controllo per verificare le prestazioni del sistema. Prima di apportare qualsiasi cambiamento al piano terapeutico di trattamento del diabete, consultare il medico curante.

Risultati attesi per adulti non affetti da diabete e donne non in gravidanza
Il test della β-chetonemia misura il livello di β-idrossibutirato (β-OHB), il più importante dei tre corpi chetonici presenti nel sangue[1].
Normalmente i livelli di β-OHB devono essere inferiori a 0,6 mmol/L[1]. I livelli di β-OHB possono aumentare in caso di digiuno, esercizio fisico vigoroso, diabete o malattia[1,2].

Se il risultato della β-chetonemia è pari a 0,0 mmol/L e la glicemia risulta di 300 mg/dL (16,7 mmol/L) o superiore, oppure se i risultati non sono coerenti con i sintomi fisici, ripetere sia il test della glicemia sia quello dei chetoni con nuove strisce.
Se il risultato della β-chetonemia è compreso tra 0,6 e 1,5 mmol/L e il risultato della glicemia è pari a 300 mg/dL (16,7 mmol/L) o superiore, è possibile che sia insorto un problema che richiede l'intervento del medico.
Se il risultato della β-chetonemia è maggiore di 1,5 mmol/L e la glicemia è pari a 300 mg/dL (16,7 mmol/L) o superiore, il soggetto è a rischio di sviluppare una chetoacetosi diabetica (DKA)[3].

Limiti della procedura

Nota – Questa striscia non è stata valutata per campioni di sangue arterioso e neonatale, o per test su siti alternativi.

- Questa striscia non è destinata all'uso con campioni di siero o plasma.
- Per ottenere i migliori risultati usare una temperatura compresa tra 18 °C e 30 °C (64 °F e 86 °F) e un'umidità relativa tra il 10% e il 90%.
- I test dimostrano che un'altitudine fino a 2.195 metri (7.200 piedi) sopra il livello del mare non incide sui risultati.
- L'intervallo dell'ematocrito è 30%–60%.
- I risultati del test possono risultare erroneamente bassi se il paziente è gravemente disidratato o gravemente ipoteso, in stato di shock o di iperglicemia ipersomolare.

Controllo di qualità
Per effettuare il controllo di qualità, usare le soluzioni di controllo del glucosio e dei chetoni MediSense per verificare le prestazioni del misuratore e delle strisce per ogni nuovo numero di lotto di strisce o in caso di dubbi sui risultati. In impostazioni multiutente, si consiglia di effettuare un controllo di qualità giornaliero per assicurare il corretto funzionamento del sistema. I risultati del controllo di qualità devono rientrare nei "Risultati attesi con le soluzioni di controllo" riportati più avanti nelle presenti istruzioni per l'uso. Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale d'uso/per l'operatore del misuratore. Per ottenere le soluzioni di controllo, contattare l'ufficio locale Abbott Diabetes Care oppure il distributore di zona.

Principio del test
Quando il campione di sangue viene applicato sulla striscia, il β-idrossibutirato (β-OHB) presente nel sangue reagisce con le sostanze chimiche presenti sulla striscia, producendo una piccola corrente elettrica. Tale corrente viene misurata e il risultato viene visualizzato dal misuratore. La dimensione della corrente dipende dalla quantità di β-OHB presente nel campione di sangue.

Reagenti
L'area del reagente di ciascuna striscia contiene:

β-idrossibutirrato deidrogenasi (*Pseudomonas sp*)	≥ 0,03 U
NAD (acido in forma libera)	≥ 1,67 µg
Fenantrolina chinone	≥ 0,29 µg
Ingredienti non reattivi	≥ 19,51 µg

Caratteristiche di prestazione
Le prestazioni della striscia sono state valutate in studi clinici e di laboratorio.

Intervallo di misurazione:	0,0–8,0 mmol/L
Volume del campione:	1,5 µL
Durata del test:	10 secondi

Riferimenti per la calibrazione
La striscia del test della β-chetonemia FreeStyle Optium H è calibrata per rispecchiare il livello di β-idrossibutirrato (β-OHB) nel plasma utilizzando il kit di valutazione Randox (RB1007).

Precisione
L'analisi della precisione mostra che i risultati variano di solito di un valore non superiore al 3,1%–3,8%. I risultati sono stati ottenuti in uno studio di laboratorio utilizzando campioni di sangue venoso intero (n = 20 per livello). Per i risultati dello studio, vedere la Tabella 1 al termine delle presenti istruzioni per l'uso.

Specificità
I sistemi non mostrano alcun tipo di interferenza con le seguenti sostanze al di sopra dei livelli terapeutici: paracetamolo, acido ascorbico, dopamina, efedrina, ibuprofene, L-dopa, maltosio, metildopa, salicilato, tetraciclina, tolazamide e tolbutamide.

Accuratezza
Il test dell'accuratezza mostra che i risultati ottenuti da operatori specializzati e da utilizzatori non esperti sono comparabili. L'accuratezza è stata valutata in quattro ospedali, confrontando i risultati del β-OHB su sangue intero con i risultati su plasma ottenuti utilizzando uno strumento di laboratorio di riferimento. Per i risultati dello studio, vedere la Tabella 2 al termine delle presenti istruzioni per l'uso.
Questi studi dimostrano che i risultati della striscia per il test della β-chetonemia sono paragonabili ai risultati ottenuti con metodi di laboratorio.

Tabella 1 - Precisione

	Basso	Medio	Alto
Media, mmol/L	0,34	2,36	6,32
DS, mmol/L	0,03	0,09	0,2
CV, %	—	3,8	3,1

Tabella 2 - Accuratezza

N. di test	288
Intervallo dei chetoni, mmol/L	0,07–5,2
Pendenza	1,06
Intercetta, mmol/L	0,07
r (coeff. corr.)	0,98

Português

Uso pretendido
IVD As tiras-teste para ß-cetona no sangue FreeStyle Optium H de destinam ao uso diagnóstico *in vitro* por profissionais de saúde em um local com diversos pacientes com os sensores FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium e Optium Xceed (nem todos os produtos estão disponíveis em todos os países) em embalagens laminadas individuais. Esses sistemas podem ser usados para medida quantitativa de β-cetona (beta-hidroxibutirato) em amostras frescas de sangue total capilar (isto é, do dedo) e venoso. Esses sistemas não devem ser usados no diagnóstico da diabetes mellitus, mas sim como um auxílio no monitoramento da efetividade dos programas de gerenciamento da diabetes.

Qual é o conteúdo da caixa de tiras-teste?
- Tiras-teste embaladas individualmente em embalagens laminadas roxas
- Instruções de uso
- Calibrador

Armazenamento e uso
As tiras-teste para ß-cetona no sangue FreeStyle Optium H são apenas para uso único. O número do lote e a data de vencimento estão impressos no verso da embalagem laminada.

- Armazene as tiras-teste a temperaturas entre 4 °C e 30 °C (39 °F e 86 °F). Mantenha ao abrigo de luz solar direta e calor. O armazenamento fora desses limites poderá causar resultados errôneos.
- Não utilize as tiras-teste depois da data de vencimento impressa na embalagem laminada e na caixa externa. Se somente o ano e o mês estiverem impressos, a data de vencimento será o último dia do mês indicado. Por exemplo, "EXP 2014/03" significa que a validade das tiras-teste termina em 31 de março de 2014.
- Utilize a tira-teste imediatamente após abrir a embalagem laminada.
- Não utilize tiras-teste molhadas, dobradas, arranhadas ou danificadas.
- Utilize a tira-teste somente uma vez e descarte-a.
- Não utilize a tira-teste se a embalagem de alumínio estiver furada ou rasgada.
- Utilize as tiras-teste para ß-Cetona no sangue FreeStyle Optium H apenas com os sensores FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium e Optium Xceed.

Calibração
O procedimento de calibração programa o monitor com o número do lote e a tecnologia da tira-teste. Esse procedimento requer o calibrador seja fornecido com a embalagem de tiras-teste e o um sensor FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium e Optium Xceed disponíveis separadamente. Consulte os procedimentos detalhados de calibração no Manual do usuário/operador do sensor.

IMPORTANTE: Sempre calibre o monitor a cada caixa nova de tiras-teste. A ausência de calibração adequada causará resultados incorretos.

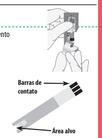
1. Com o número de lote voltado para você, insira as barras de contato do calibrador roxo no sensor.
2. O número de lote aparecerá na janela de exibição do sensor com os seguintes símbolos:
   - O Optium Xceed e o FreeStyle Optium H exibem **CODE**.
   - O FreeStyle Optium Neo H exibe **KEY** e o **Lot**.
   - O Optium exibe primeiro **Ketone** e depois **LOT**.
3. Verifique se o número de lote na janela de exibição do sensor corresponde ao número no calibrador da tira-teste e se os cinco primeiros dígitos na embalagem da tira-teste e nas instruções de uso da tira-teste são os mesmos.



Observação: Utilize somente o calibrador fornecido com as tiras-teste. Mantenha o calibrador até que todas as tiras-teste na caixa tenham sido utilizadas. Quando a caixa estiver vazia, jogue fora o calibrador.

Coleta e preparação de amostras
As tiras-teste FreeStyle Optium H para β-cetona no sangue foram projetadas para uso com amostras de sangue total fresco. O volume mínimo de amostra é 1,5 µL.
Antes de obter a amostra de sangue da ponta do dedo, limpe e seque completamente o local de coleta da amostra. Se possível, mantenha o braço abaixado antes de lancetar o dedo para aumentar o fluxo de sangue. Utilize a amostra imediatamente.
As amostras de sangue total venoso podem ser coletadas em tubos de heparina de sódio ou de lítio ou EDTA e devem ser utilizadas em 30 minutos. Não utilize tubos contendo fluoreto ou oxalato.

Teste de β-cetona no sangue
Esse procedimento requer um sensor FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H, Optium ou Optium Xceed, vendidos separadamente. Consulte o Manual do Usuário/Operador do sensor para detalhes sobre o procedimento de teste.



1. Limpe e seque completamente o local de coleta da amostra.
2. Abra a embalagem da tira-teste rasgando-a na parte pontilhada.
3. Insira as barras de contato na porta de teste.
4. Empurre a tira-teste para dentro da porta de teste até encontrar resistência. Verifique se o número de lote que aparece na janela de exibição corresponde aos 5 primeiros dígitos do número de lote na embalagem laminada da tira-teste.
5. Lancete o dedo para obter uma gota de sangue.
6. Encoste a gota de sangue na área branca localizada na ponta da tira enquanto o visor exibir a mensagem Aplicar amostra.
7. Segure o dedo no lugar até que o teste seja iniciado.
8. O teste começará quando a amostra for detectada.

IMPORTANTE: Se o teste não se iniciar, coloque uma segunda gota de sangue até 30 segundos após a primeira. Se o teste não se iniciar novamente ou se transcorreram mais do que 30 segundos, repita com uma nova tira-teste.

9. O sistema realiza uma contagem regressiva de 10 segundos antes de exibir o resultado da β-cetona no sangue.
10. Descarte a tira-teste de forma adequada. Após aberta, a embalagem laminada pode ser usada para remover e descartar a tira-teste usada.

Consulte o Manual do Usuário/Operador para detalhes sobre os procedimentos de teste.

Mensagens de teste do monitor
As mensagens a seguir poderão indicar que existe algum resultado de β-cetona no sangue que exija atenção imediata ou que talvez haja algum problema com a tira-teste:

- **HI** (ALTO) significa que o sensor determinou que o resultado de β-cetona no sangue é superior a 8,0 mmol/L.
- O **Test Error 2** ou **Test Error 4** (sensor Optium) ou **E-3** ou **E-4** (sensores FreeStyle Optium Neo H, FreeStyle Optium H e Optium Xceed) indica que pode haver um erro de teste.

Se qualquer dessas mensagens for exibida, repita o teste com uma nova tira-teste. Você também pode realizar um teste com a solução controle para verificar o desempenho de seu sistema. Consulte o médico que prescreveu o tratamento antes de efetuar qualquer mudança nos planos do programa de medicamentos para diabetes.

Resultados esperados para adultos não-diabéticos e sem gravidez
O teste de β-cetona no sangue mede o β-hidroxibutirato (β-OHB), a cetona mais importante entre as três cetonas no sangue[1]. Geralmente, espera-se que os níveis de β-OHB sejam inferiores a 0,6 mmol/L[1]. Os níveis de β-OHB podem aumentar se a pessoa estiver em jejum, fizer exercícios físicos vigorosos ou se tiver diabetes e ficar doente[1,2].
Se o resultado de β-cetona no sangue for 0,0 mmol/L e o resultado de glicose no sangue for 300 mg/dL (16,7 mmol/L) ou superior ou se os resultados não estiverem coerentes com os sintomas físicos, repita os testes de cetona e de glicose com novas tiras-teste.
Se o resultado de β-cetona no sangue estiver entre 0,6 mmol/L e 1,5 mmol/L e o resultado de glicose no sangue for 300 mg/dL (16,7 mmol/L) ou superior, isso pode indicar o desenvolvimento de um problema que exija intervenção médica.
Se o resultado de β-cetona for superior a 1,5 mmol/L e o resultado de glicose no sangue for 300 mg/dL (16,7 mmol/L) ou superior, isso pode indicar risco de cetoacidose diabética (CAD)[3].

Limitações do procedimento

Observação: Essa tira-teste não foi avaliada para amostras de sangue arterial e neonatal, nem para amostras coletadas em locais alternativos.

- A tira-teste não foi projetada para usa com amostras de soro ou plasma.
- Utilize o sistema entre 18 °C e 30 °C (64 °F e 86 °F) e entre 10% e 90% de umidade relativa para obter resultados ideais.
- Testes demonstram que altitudes de até 2.195 metros (7.200 pés) acima do nível do mar não afetam os resultados.
- O intervalo de hematócritos é de 30% a 60%.
- Os resultados dos testes podem estar incorretamente baixos se o paciente estiver seriamente desidratado, hipotenso, em choque ou em estado de hiperglicemia hiperosmolar.

Controle de qualidade
Utilize as soluções controle de cetona e glicose MediSense para realizar um teste de controle de qualidade para verificar o desempenho do sensor e das tiras-teste com cada novo número de lote da tira-teste, ou quando houver dúvidas sobre os resultados. Em ambiente com vários usuários, recomenda-se a realização de testes diários de controle de qualidade para garantir que o sistema esteja funcionando corretamente. Os resultados de controle devem estar dentro dos limites dos "Resultados esperados com soluções de controle" exibidos abaixo nestas instruções de uso.
Consulte o Manual do Usuário/Operador do sensor para instruções detalhadas. Entre em contato com o escritório ou distribuidor local da Abbott Diabetes Care para adquirir soluções de controle.

Princípio do teste
Quando a amostra de sangue é aplicada à tira-teste, o β-hidroxibutirato (β-OHB) presente no sangue reage com os produtos químicos contidos na tira-teste, produzindo uma pequena corrente elétrica. Essa corrente é medida e, em seguida, o resultado é exibido pelo sensor. O tamanho da corrente depende da quantidade de β-OHB presente na amostra de sangue.

Reagentes
A área reagente de cada tira-teste contém:

β-Hidroxibutirato desidrogenase (*Pseudomonas sp*)	≥ 0,03 U
NAD (forma de ácido livre)	≥ 1,67 µg
Fenantrolina quinona	≥ 0,29 µg
Ingredientes não-reativos	≥ 19,51 µg

Características de desempenho
O desempenho da tira-teste foi avaliado em estudos laboratoriais e clínicos.

Intervalo do ensaio:	0,0–8,0 mmol/L
Volume da amostra:	1,5 µL
Duração do teste:	10 segundos

Referência de calibração
As tiras-teste para β-cetona no sangue FreeStyle Optium H são calibradas para refletir o β-hidroxibutirato (β-OHB) usando o kit de ensaio Randox (RB1007).

Precisão
Testes de precisão mostram que os resultados variam, em geral, não mais do que 3,1% a 3,8%. Os resultados foram obtidos em estudo laboratorial com amostras de sangue total venoso (n = 20 por nível). Consulte a Tabela 1 no final destas instruções de uso para obter os resultados do estudo.

Especificidade
Os sistemas não apresentam interferência das seguintes substâncias acima dos níveis terapêuticos: Acetaminofeno, ácido ascórbico, dopamina, efedrina, ibuprofeno, L-dopa, maltose, metildopa, salicilato, tetraciclina, tolazamida e tolbutamida.

Exatidão
A exatidão do teste demonstra que os resultados entre técnicos treinados e pessoas leigas são comparáveis. A exatidão foi avaliada em quatro hospitais por comparação dos resultados de β-OHB em sangue total com os resultados de plasma obtidos empregando-se instrumentos laboratoriais de referência. Consulte a Tabela 2 no final destas instruções de uso para obter os resultados do estudo.
Esses estudos demonstram que os resultados das tiras-teste para β-cetona no sangue são comparáveis com os resultados dos métodos laboratoriais.

Tabela 1 - Precisão

	Baixa	Média	Alta
Média, mmol/L	0,34	2,36	6,32
DP, mmol/L	0,03	0,09	0,2
CV, %	—	3,8	3,1

Tabela 2 - Exatidão

Número de testes	288
Faixa de concentrações de cetona, mmol/L	0,07–5,2
Declive	1,06
Intercepto, mmol/L	0,07
r (coef. de correlação)	0,98

GRAV. BAR MUST BE 282 mm FROM TOP TRIM. MUST DO NOT MOVE GRAV. BAR BELOW.
shaded area for LOT, LO, MID, HI and overprint content.

LOT
Expected Results with Control Solutions/ Resultados esperados con soluciones de control/ Résultats attendus avec les solutions de contrôle/ Risultati attesi con le soluzioni di controllo/ Resultados esperados com soluções de controle
LO Low/ Bajo/ Bas/ Basso/ Baixo:
MID Mid/ Medio/ Moyen/ Medio/ Médio:
HI High/ Alto/ Haut/ Alto/ Alto:

A window of 120 mm Min clearance for OVERPRINTING is required.
This measurement begins after the colon following the lo, mid,hi text.

Page numbering required by UK.

Page numbering required by UK.

Description of Symbols/ Descripción de símbolos/ Description des symboles/ Descrizione dei simboli/ Descrição dos símbolos

	Consult instructions for use/ Consulte las instrucciones de uso/ Consulter le mode d'emploi/ Consult are le istruzioni per l'uso/ Consulte as instruções de uso
	Temperature Limit/ Límite de temperatura/ Limite de température/ Limite di temperatura/ Limites de temperatura
CE	CE Mark/ Marca CE/ Marquage CE/ Marchio CE/ Marca CE
LOT	Batch code/ Código de lote/ Code de lot/ Lotto/ Código do lote
REF	Catalogue number/ Número de catálogo/ Numéro de référence/ Numero di listino/ Número de catálogo
	Use-by date/ Fecha de caducidad/ Utiliser avant le/ Utilizzare entro/ Data de validade
IVD	*In vitro* diagnostic medical device/ Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*/ Dispositif médical de diagnostic *in vitro*/ Dispositivo medico diagnostico *in vitro*/ Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
	Manufacturer/ Fabricante/ Fabricant/ Fabbricante/ Fabricante
	Do not re-use/ No reutilizar/ Ne pas réutiliser/ Non riutilizzare/ Não reutilizar

Distributed by | Distribuido por | Distribué par | Distribuito da | Distribuido por:
Abbott Laboratories Argentina SA, Abbott Diabetes Care, Ing. Butty 240 - 12° Piso., Ciudad Autonoma de Buenos Aires, ARGENTINA, C1001 AFB, 0-800-800-6334

Abbott Laboratórios do Brasil Ltda., Abbott Diabetes Care, Rua Michigan, 735, Cidade Monções, 04566-905 São Paulo, SP, Brasil. CNPJ: 56.998.701-0001-16. Responsável Técnico: Danielle Parizi Angelino, CRF-SP 31.754. 0800-703 0128. RMS: 80146501874

Abbott Laboratories de Chile Ltda., Abbott Diabetes Care, Av. El Salto nº 5380 -Huechuraba, Santiago, Chile, 800 802 226

Abbott Laboratorios de Colombia S/A, Abbott Diabetes Care, Calle 100 nº 9A-45 Piso 14, Bogotá, Colombia, 01800 5181895

Abbott France S.A.S., Abbott Diabetes Care, 12 rue de la Couture, 94528 Rungis Cedex, France, 0800 10 11 56 ou 01 45 60 34 34

Abbott Laboratories Ireland, Ltd., Abbott Diabetes Care, 4051 Kingswood Drive, Citywest Business Campus, Dublin 24, Ireland, 1800 77 66 33

Abbott s.r.l, Abbott Diabetes Care, Via Amsterdam 125, 00144 Roma, Italia, Per assistenza tecnico-addestrativa contattare 800 33 42 16

Abbott Laboratories de México SA de CV, Abbott Diabetes Care, Calz. Tlalpan 3092, Col Ex-Hacienda Coapa, México - DF, 04980, Mexico DF 5524 4175 Fuera de Mexico DF 01 800 711 2208

Abbott Laboratories, Abbott Place, 219 Golf Club Terrace, Constantia Kloof, 1709, Johannesburg, South Africa, 0800 222 688 / +27 11 858 2375

Abbott Laboratories S.A., Abbott Diabetes Care, Costa Brava 13, 28034 Madrid, España, 900 300 119

Abbott Laboratories Ltd., Abbott Diabetes Care, Abbott House, Vanwall Business Park, Vanwall Road, Maidenhead, Berkshire, SL6 4UD; UK, 0500 467 466

Uruguay, 0800 – 8564

Abbott Laboratorios C.A., Abbott Diabetes Care, Centro Gerencial Los Cortijos 1er Piso, Calle Los Laboratorios, Urb Los Cortijos de Lourdes, Caracas, Venezuela, 1071, 0800-4582672 / 0800-GLUCOSA

References/ Referencias/ References/ Riferimenti/ Referências
1. Schade DS, Eaton RP. Metabolic and clinical significance of ketosis. Special Topics in Endocrinology and Metabolism 1982;4:1-27.
2. Wiggam MI, O'Kane MJ, Harper R, Atkinson AB, Hadden DR, Trimble ER, Bell PM. Treatment of diabetic ketoacidosis using normalization of blood 3-hydroxybutyrate concentration as the endpoint of emergency management. Diabetes Care 1997; 20:1347-52.
3. Harano Y, Kosugi K, Hyosu T, Suzuki M, Hidaka H, Kashiwagi A, Uno S, Shigeta Y. Ketone bodies as markers for Type 1 (insulin-dependent) diabetes and their value in the monitoring of diabetes control. Diabetologia 1984;26:343-8.
4. Ubukata E. Diurnal variation of blood β-ketone bodies in insulin-dependent diabetes mellitus and noninsulindependent diabetes mellitus patients: The relationship to serum c-peptide immunoreactivity and free insulin. Ann Nutr Metab 1990;34:333-42.
5. Luzi L, Barrett EJ, Groop LC, Ferrannini E, DeFronzo RA. Metabolic effects of low-dose insulin therapy on glucose metabolism in diabetic ketoacidosis. Diabetes 1988;37:1470-77.
6. Hale PJ, Crase J, Nattrass M. Metabolic effects of bicarbonate in the treatment of diabetic ketoacidosis. Br Med J 1984;289:1035-8.

Product of U.K.
This product(s) and/or its manufacture and/or use are protected by one or more of the following patents / Este producto, su fabricación y uso están protegidos por una o más de las siguientes patentes / Ce ou ces produits et ou/leur fabrication et/ou utilisation sont protégés par un ou plusieurs des brevets suivants / Questo(i) prodotto(i) e/o il relativo produttore e/o il relativo uso sono coperti da uno o più dei seguenti brevetti / Este(s) produto(s) e/ou sua fabricação e/ou uso são protegidos por uma ou mais das seguintes patentes: US5,628,890; US5,682,884; US5,727,548; US6,129,823; US6,377,894; US6,591,125; US6,600,997; US6,736,957; US6,764,581; US6,773,671; US6,939,450; US7,058,437; US7,504,019; US7,740,581; US7,905,999; US7,922,883; US7,998,337; US8,118,993; US8,182,671; US8,211,280; US8,221,612; US8,241,485; US8,241,486; US8,372,261; US8,414,485; US8,414,760; US8,425,743; US8,449,758; US8,532,731; EP1000850; EP1023455; EP1135679; EP1119637; EP1801229; CA2302448; CA2369800; CA2364415; CA2517196; CA2153670. Additional patents may be issued and/or pending. / Otras patentes pueden ser expedidas o estar en trámite. / Des brevets supplémentaires peuvent être déposés et/ou en instance. / Eventuali altri brevetti già concessi o in attesa di concessione. / Outras patentes podem ser emitidas e/ou estarem pendentes.
FreeStyle and related brand marks are trademarks of Abbott Diabetes Care Inc. in various jurisdictions.

©2014 Abbott
ART30778-005 Rev. A 06/14

Abbott Diabetes Care Ltd.
Range Road
Witney, Oxon
OX29 0YL, UK

ART30778-005_rev-A.indd 2
6/27/14 9:45 AM

DO NOT PRINT FROM THIS FILE -
FOR REFERENCE ONLY

English

IVD For external use (***in vitro*** diagnostic use)

Intended Use

MediSense Glucose and Ketone Control Solutions are designed for consumer home testing and healthcare professional use with all FreeStyle Precision, FreeStyle Precision H, Precision Xceed Pro, FreeStyle Optium, FreeStyle Optium H and all other Precision and Optium Blood Glucose and β-Ketone Monitoring Systems, except ExacTech, Optium Mini and Optium Omega. The controls are used to check the performance of your system.

When to do a control solution test:

When you question your results and want to confirm that your monitor and test strips are working properly.

For more information on how to obtain Control Solutions, contact your local Abbott Diabetes Care office or distributor.

Healthcare Professionals Please Note:

Daily control testing is recommended in a multi-user setting to ensure that the systems are operating properly.

Storage and Handling

39°F 4°C – 86°F 30°C Store the control solutions at temperatures between 39° and 86°F (4° and 30°C). They are stable for 90 days after opening.

DATE When you open a new bottle, write the date of opening on the bottle label. Always replace cap tightly.

Precautions and Warnings

- Do not use control solutions 90 days after opening or if they are expired (check the expiration date printed on each bottle and on the box they were packaged in).
- Please refer to your test strip package insert for acceptable temperature and humidity test conditions.
- If the control solutions have been refrigerated, allow them to reach the system operating temperature **before performing** control testing.
- Invert the control bottle three to four times to ensure thorough mixing before use.
- **Do not swallow or inject the solution.**
- Do not use with ExacTech, Optium Mini or Optium Omega Systems.
- Do not re-use test strips.

Procedure

Please refer to the appropriate manual for control testing instructions.

Materials Provided

Low Control Solution (white cap) Volume 4 mL
High Control Solution (blue cap) Volume 4 mL

Materials Required But Not Provided

Monitor, Test Strips and User's or Operator's Manual.

Expected Results

Compare the control results to the "Expected Results For Control Solutions" printed on the test strip package insert sheet found in the carton of test strips or on the test strip barcode label (if applicable) being used. Check that the lot number printed on the test strip packet and insert matches. The results obtained from control testing do not reflect your personal blood glucose or ketone level.

Quality Control

If the control results are outside the expected ranges, repeat the test. Check that the instructions are followed correctly. If the results are outside the ranges again, contact your local Abbott Diabetes Care office or distributor.

Reagent Composition

LO Low Control Solution

0.04%	w/v	Glucose
0.02%	w/v	DL-Beta-hydroxybutyrate
99.94%	w/v	Other ingredients

HI High Control Solution

0.22%	w/v	Glucose
0.08%	w/v	DL-Beta-hydroxybutyrate
99.70%	w/v	Other ingredients

Español

IVD Para uso externo (para uso diagnóstico ***in vitro***)

Propósito de uso

Las soluciones de control de glucosa y cetonas MediSense están diseñadas para uso en autodiagnóstico y por profesionales de la salud con todos los sistemas de prueba para cetona-B y glucosa en sangre de FreeStyle Precision, FreeStyle Precision H, Precision Xceed Pro, FreeStyle Optium, FreeStyle Optium H y todos los otros Precision y Optium, excepto ExacTech, Optium Mini y Optium Omega. Los controles se usan para comprobar el funcionamiento del sistema.

Cuándo hacer una prueba de solución de control:

Si no está seguro de sus resultados y quiere confirmar que su monitor y sus tiras de prueba están funcionando correctamente.

Para más información sobre cómo obtener soluciones de control, póngase en contacto con la oficina o distribuidor local de Abbott Diabetes Care.

Nota para los profesionales de la salud:

En los lugares donde haya varios usuarios se recomienda llevar a cabo pruebas de control diariamente para asegurar que los sistemas funcionan de forma adecuada.

Conservación y manipulación

39°F 4°C – 86°F 30°C Conserve las soluciones de control a temperaturas entre 39 y 86 °F (4 y 30 °C). Las soluciones de control permanecen estables hasta 90 días después de abrirse.

DATE Cuando abra un frasco nuevo, escriba la fecha en la etiqueta. Cerciórese siempre de cerrar firmemente el frasco.

Precauciones y advertencias

- No use las soluciones de control si han estado abiertas por más de 90 días o si se han vencido (revise la fecha de vencimiento impresa en cada frasco y en la caja en la que venían empaquetadas).
- Consulte el prospecto del paquete de las tiras de prueba para saber las condiciones de temperatura y humedad aceptables para la prueba.
- Si ha refrigerado las soluciones de control, deje que alcancen la temperatura de funcionamiento del sistema **antes de realizar** las pruebas de control.
- Voltee el frasco de control tres o cuatro veces hacia arriba y hacia abajo para mezclar la solución completamente antes de usarla.
- **No ingiera ni se inyecte la solución.**
- No utilice las soluciones de control con los sistemas ExacTech, Optium Mini u Optium Omega.
- No utilice las tiras de prueba más de una vez.

Procedimiento

Consulte el manual correspondiente para obtener las instrucciones de la prueba de control.

Materiales suministrados

Solución de control baja (tapa blanca), 4 mL de volumen
Solución de control alta (tapa azul), 4 mL de volumen

Materiales requeridos pero no suministrados

Monitor, tiras de prueba y el manual del usuario.

Resultados previstos

Compare los resultados de control con los "Resultados previstos para las soluciones de control" impresos en el prospecto que se encuentra en la caja de las tiras de prueba o en la etiqueta del código de barras (si corresponde) de la tira de prueba que se está usando. Cerciórese de que coincidan los números de lote impresos en la envoltura de las tiras de prueba y en el prospecto. Tenga presente que los resultados obtenidos en pruebas de control no reflejan su propio nivel de glucosa o cetonas en sangre.

Control de calidad

Si los resultados del control se encuentran fuera del rango previsto, repita la prueba. Cerciórese de seguir las instrucciones correctamente. Si los resultados se encuentran nuevamente fuera del rango previsto, comuníquese con la oficina local de Abbott Diabetes Care o con su distribuidor.

Composición del reactivo

LO Solución de control baja

0,04%	p/v	Glucosa
0,02%	p/v	Beta-hidroxibutirato
99,94%	p/v	Ingredientes no reactivos

HI Solución de control alta

0,22%	p/v	Glucosa
0,08%	p/v	Beta-hidroxibutirato
99,70%	p/v	Ingredientes no reactivos

QMS-DWG-069

MediSense® Glucose & Ketone Control Solutions

MediSense® Glucose & Ketone Control Solutions

Description of symbols / Descripción de símbolos:

	Consult Instructions for Use Consultar las instrucciones de uso	IVD	*In vitro* diagnostic medical device Dispositivo médico para uso diagnóstico *in vitro*
	Temperature Limitation Limitación de temperatura		Use by Utilizar antes de
	Do not drink or swallow No beber ni ingerir	LOT	Batch code Código de lote
DATE	Date opened Fecha en que se abrió		Do not re-use No reutilizar
REF	Catalog Number Número de catálogo	EXP	Expiration Date Fecha de vencimiento

Distributed by / Distribuido por:

Abbott Laboratorios Argentina SA
Abbott Diabetes Care
Ing. Butty 240 - 13° Piso.
Ciudad Autonoma de Buenos Aires
ARGENTINA
C1001 AFB
0-800-800-6334

Abbott Laboratorios de Chile Ltda.
Abbott Diabetes Care
Avenida El Salto nº 5380 - Huechuraba
Santiago, Chile
800 802 226

Abbott Laboratorios de Colombia S/A
Abbott Diabetes Care
Calle 100 nº 9A-45 Piso 14
Bogotá, Colombia
01 8000 522268

Abbott Laboratories de México SA de CV
Abbott Diabetes Care
Calz. Tlalpan 3092
Col. Ex-Hacienda Coapa
México - DF
04980
Mexico DF 5524 4175
Fuera de Mexico DF 01 800 711 2208

Abbott Laboratorios C.A.
Abbott Diabetes Care
Centro Gerencial Los Cortijos 1er Piso
Calle Los Laboratorios
Urb Los Cortijos de Lourdes
Caracas, Venezuela
1071
0800-4582672
0800-GLUCOSA

Bioerix
Simón Bolívar 1472
CP 11600
Montevideo – Uruguay
(598) 27081624
Línea Gratuita Centro de Atención al Cliente: 0800 8564
Dirección Técnica Q.F. Mariela Ricca

QMS-DWG-069

Manufacturer / Fabricante:
Abbott Diabetes Care Ltd.
Range Road
Witney, Oxon
OX29 0YL, UK
Product of USA
© 2010 Abbott
FreeStyle and related brand marks are trademarks of Abbott Diabetes Care, Inc. in various jurisdictions.
ART19250-101 Rev. A 12/13

Abbott

MICRO ESSENTIAL
LABORATORY
Hydrion® pH and sanitizer test kits since 1934

PAPEL pH 0–13 HYDRION® (93)

Utilizado en todo el mundo, el papel pH Hydrion establece el estándar para una prueba rápida, fácil y precisa en todo el rango de pH.

Los Papeles de Prueba pH, Tiras pH y Tampones pH Hydrion® pH gozan de confianza en todo el mundo por su excepcional calidad, fiabilidad y precisión. Se les puede hallar en laboratorios en todo el mundo y se utilizan en las industrias de atención de salud, servicio de alimentos, educación y seguridad ambiental.

El papel de prueba pH 0-13 marca Hydrion proporciona excelente separación de color en todo el rango de la escala pH, con coincidencias de color individuales claras y brillantes en cada intervalo de 1.0 desde pH 0.0 a 13.0. Lo mejor en pruebas de pH fáciles y precisas.

- **Rápido, preciso, fácil de usar: una inmersión, una coincidencia de color**
- **Dispensador resistente y conveniente de papel de prueba de rollo simple o doble.**
- **Hechas en los EE.UU.**



Para más información contacte a
www.MicroEssentialLab.com

MICRO ESSENTIAL
LABORATORY
Hydrion® pH and sanitizer test kits since 1934

Papel pH 0–13 HYDRION® (93)

- Dimensiones de Papel: 15ft x 1/4 pg (5m x 6mm)
- Empaquetado en práctico dispensador con tabla de color.

No. Catálogo	Rango pH	Lecturas pH
93	0–13	0.0 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 7.0 | 8.0 | 9.0 | 10.0 | 11.0 | 12.0 | 13.0

Cómo medir el pH con Tiras Hidryon

- Sumerja la tira en la solución de prueba
- Retire la tira y compare inmediatamente el color resultante con la tabla de color de pH coincidente



Servicio al Cliente sin igual

Proporcionar papeles de prueba pH y estándares de tampón pH de la más alta calidad es sólo parte del compromiso de Micro Essential Laboratory. Nuestro experimentado personal técnico y equipo de ser-vicio al cliente está a su disposición para ayudarle con consultas, preocupaciones o pedidos que pueda tener. Hoy como siempre, Micro Essential Laboratory está enfocado en la satisfacción del cliente.

© 2015 Micro Essential Laboratory Inc. Todos los derechos reservados Impreso en EE.UU.

Para más información contacte a
www.MicroEssentialLab.com

ACEITE DE INMERSIÓN

Medio de inmersión para microscopia

REF	Código	Presentación
	06118	50 mL
	00022	100 mL
	00025	250 mL

APLICACIÓN

El aceite de inmersión para microscopía tiene aproximadamente el mismo índice de refracción que el vidrio. Mediante el aceite de inmersión se elimina casi completamente la desviación de los rayos de luz y se aumenta considerablemente la eficacia de los objetivos de los microscopios.

CONTENIDO

R 1 **ACEITE DE INMERSIÓN - Listo para su uso**
Aceite de ricino, Benzoato de bencilo.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El reactivo debe almacenarse entre 15°C y 30°C. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones y reactivos.
- Las soluciones y reactivos usados y los caducados deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio.
- Laminas portaobjetos.
- Laminillas cubreobjetos.

MUESTRAS

Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse los materiales o instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación y/o el empleo.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

En la observación al microscopio debe inicialmente enfocarse la correspondiente parte en el preparado de la lamina. Entonces se gira algo la torre del objetivo. Se agrega una gota de aceite de inmersión sobre el área a observar y se gira a su posición original el objetivo de inmersión.

Cuando se ha acabado el proceso de observación al microscopio, se limpian la lente frontal y el preparado para eliminar el aceite de inmersión. Se puede utilizar el limpiador de lentes IHR® Diagnostica.

Nota Técnica:

- El microscopio usado debe cumplir los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.
- Los preparados deben estar secos antes de la observación al microscopio con aceite de inmersión, es decir, deben dejarse secar bien los preparados o, si es necesario, montar un cubreobjetos, ya que de lo contrario la imagen se enturbia.

CARACTERÍSTICAS

Característica	Especificación
Índice de Refracción	1,5080 –1,5180
Densidad (g/mL)	1,000 – 1,050
Transmitancia % 380nm; 1 cm 400nm; 1 cm 450nm; 1 cm	 ≥65% ≥78% ≥90%
Fluorescencia (como quinina a 365 nm)	1500 ppb
Viscosidad (20°C)	100 – 120 mPa.s
Aptitud para Microscopia	Corresponde
Solubilidad en:	Xileno - Tolueno

BIBLIOGRAFÍA

1.Morin, L.G., Clin. Chem. 20:51 (1974).
2.Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. 2 Ed. Harper and Row Publisher. New York, 1974.
3.Young D.S., et al., Clin Chem. 21:1D 1975.

Índice de Símbolos					
IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR
Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

2019-10v4

Aguja Múltiple BD Vacutainer®

BD Vacutainer®

Descripción de producto:
Aguja en acero inoxidable estéril para la extracción de sangre al vacío

Características Generales

- Aguja de doble punta una de ellas se inserta en el paciente y la otra perfora los tubos al vacío
- Por sus paredes delgadas el lumen de la aguja es más amplio para permitir el flujo de sangre y así disminuir el riesgo de hemólisis
- Protegida por una envoltura en plástico de dos colores blanco y Negro, Verde o Amarilla según el calibre
- Tiene un sello de seguridad de color blanco que une las dos partes de la envoltura de la aguja el cual se rompe en el momento de su uso.
- Técnica de afilado Precisión Glide™, Tribiselada, la cual produce menor dolor y menor lesión en el tejido garantizando mayor confort en el momento de la punción.
- Las agujas BD Vacutainer tienen un tapón de goma cubriendo el extremo opuesto al que está en contacto con el paciente previniendo la fuga de sangre dentro del soporte durante la venopunción.
- Se utiliza con un soporte en el cual se introducen los tubos al vacío para la extracción de sangre y así evitar manipulación directa con a la muestra y la aguja misma
- Compatible con todos los sistemas de extracción de sangre al vacío.
- Técnica de esterilización óxido de Etileno
- Vida útil cinco (5) años a partir de su fabricación



Presentaciones

Números de Catalogo	Calibre	Presentación	Color	Registro IMVIMA
360210	22 G x 1” = 22 x 25	Caja por 100 Unds	Negro	2019DM-0019344
360212	21 G x 1” = 21 x 25	Caja por 100 Unds	Verde	2019DM-0019344
360213	21 G x 1.1/2” = 0.8 x 38 mm	Caja por 100 Unds	Verde	2019DM-0019344
360214	20G x 1” = 20 x 25	Caja por 100 Unds	Amarillo	2019DM-0019344
360215	20G x 1.1/2” = 20 x 38	Caja por 100 Unds	Amarillo	2019DM-0019344

Becton Dickinson de Colombia Ltda.
Complejo Logístico Industrial de Siberia CLIS. Vereda Vuelta Grande a 150 mts Glorieta Vía Siberia - Cota. Bodegas 56 y 57.
Cota, Cundinamarca- Colombia. Tel: 7566060

Holders



Ya sea que necesite un holder desechable, reusable o automático, BD Vacutainer® le ofrece la solución a través de una amplia gama, todos compatibles con las agujas, equipos alados y adaptador Luer de BD.

Código / Clave SS	Descripción		
364893 080.025.0136	Holder amarillo convencional	Bolsa/10 pzas.	
364597 080.235.0942	Adaptador pediátrico	Bolsa/10 pzas.	
364815	Holder desechable	Bolsa/250 pzas.	
368872	Holder automático Pronto™	Caja/20 pzas.	

Agujas BD Vacutainer® Eclipse™



La aguja BD Vacutainer® Eclipse™ con broche de seguridad para recolección de sangre es la forma más simple y segura de evitar las punciones accidentales, ya que cuenta con dispositivo de seguridad que se activa con una sola mano y que no cambia la técnica de trabajo. Fabricada con tecnología PrecisionGlide™.

Código / Clave SS	Descripción	Caja con 48 pzas.
368607 080.025.0359	Aguja para toma múltiple con broche de seguridad, 21G x 32 mm	
368608 080.025.0367	Aguja para toma múltiple con broche de seguridad, 22G x 32 mm	



Recuerde, toda muestra biológica es infectocontagiosa hasta que se demuestre lo contrario. Disminuya riesgos de punciones accidentales utilizando dispositivos de seguridad.

COLORACIÓN GRAM

Juego de soluciones para la coloración diferencial de GRAM para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos para la coloración de GRAM se utilizan para realizar tinciones de microorganismos de cultivos o muestras mediante el método diferencial de GRAM.

PRINCIPIO

La tinción de GRAM fue creada en 1884 por Christian Gram con la intención de distinguir las células bacterianas del tejido infectado. Aunque Gram observó lo que ahora se denomina la "reacción de Gram", no reconoció el valor taxonómico de su técnica. La tinción de GRAM ahora se utiliza para diferenciar las bacterias intactas y morfológicamente similares en dos grupos según el color de la célula después de la tinción. Además, se hacen evidentes la forma, el tamaño y los detalles estructurales de la célula. Dicha información preliminar proporciona indicios importantes en cuanto al tipo de organismo u organismos presentes y las técnicas ulteriores necesarias para caracterizarlos. La coloración de GRAM ha constituido un elemento fundamental para la taxonomía e identificación. Las bacterias GRAM positivas que presentan una gruesa capa de peptidoglicano como estructura fundamental por sobre la membrana citoplasmática, y las GRAM negativas, que encima de ésta, presentan una delgada capa de peptidoglicano, a la que se superpone una capa de lipopolisacáridos-lipoproteína, denominada membrana externa. La presencia de esta membrana diferencia actualmente dos divisiones en sistemática bacteriana: las que no lo poseen, Firmicutes (GRAM +) y las que sí, Gracilicutes (GRAM-). Esta coloración permite la clasificación de las bacterias en GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS SEGÚN LA COMPOSICIÓN DE SU PARED CELULAR. Por esto el complejo de color formado con la pared de las bacterias gram positivas no puede ser removido con el agente decolorante que es el alcohol acetona. La célula permanece de color azul violeta, en cambio las bacterias gram negativas, al decolorarse con el alcohol acetona, se dejan colorear con la fucsina ó safranina, quedando de color rosado

CONTENIDOS

R 1 **VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM**
–Listo para su uso
Violeta cristal, Amonio Oxalato, Agua desmineralizada tipo II

R 2 **LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM** -Listo para su uso
Yodo metálico, Yoduro de potasio, Agua desmineralizada tipo II

R 3 **ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM**
– Listo para su uso
Alcohol Etílico al 96%, Acetona

R 4 **FUCSINA BÁSICA GRAM** –Listo para su uso
Fucsina básica, Fenol, Alcohol etílico al 96%

Alternativa
SAFRANINA GRAM –Listo para su uso
Safranina, Alcohol etílico al 96%

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R3 ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son inflamables, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de tinción
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Líquidos corporales, exudados, material de colonias líquido o sólido.
Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme.
Emulsionar las colonias de un cultivo de 18 – 24 h en solución salina para obtener la densidad adecuada. Dejar que el frotis se seque al aire.
Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la tinción.

NOTA: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una tinción atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Cubrir la preparación (Placa) fijada con VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM por un (1) minuto.
2. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
3. Cubrir la preparación (Placa) con LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM por un (1) minuto.
4. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
5. Decolorar la placa con ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM Por 15 - 30 segundos hasta que la placa decolore totalmente.
6. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
7. Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM por un (1) minuto.
8. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
9. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de tinción, decoloración y lavado. Se ha encontrado que el mal uso del ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM en la fase de decoloración puede llegar a decolorar los gérmenes GRAM POSITIVOS.

RESULTADOS PREVISTOS

Microorganismos GRAM Positivos	**Azul-Violeta**
Microorganismos GRAM Negativos	**Rosa-Rojo**

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
Los controles pueden realizarse con bacterias GRAM Positivas (Staphylococcus aureus) y bacterias GRAM Negativas (Escherichia coli).
Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18-24 horas.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La tinción de GRAM proporciona información de identificación primaria solamente, y no está diseñada para sustituir los estudios de cultivo de la muestra. Los resultados de tinción de GRAM deben confirmarse con procedimientos adicionales tales como análisis directo de antígenos y cultivos de los medios.
- Cualquier tratamiento anterior con antibióticos puede hacer que organismos grampositivos de una muestra aparezcan como gramnegativos.
- Se aconseja el uso de cultivos de 18 – 24 h para obtener resultados óptimos, dado que las células recientes tienen una mayor afinidad que las células de más antigüedad para la mayoría de los colorantes.
- La reacción de tinción de GRAM se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la tinción de GRAM de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Splengler, M.S., Rodeheaver, G.T., Richter, L., Edgerton, Edlich, R.F.. The Gram stain – The most important diagnostic test of infection. J.Am. College Emergency Physicians 7, 434-438. (1978).
3. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR
Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

2017-07v5

COLORACIÓN BK

Juego de soluciones para la coloración de micobacterias según Ziehl-Neelsen para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos de coloración B.K. se utilizan para teñir frotis preparados a partir de muestras y cultivos que se sospecha que contienen micobacterias, para el diagnóstico de sospecha precoz de infección micobacteriana y la caracterización de aislados bacterianos.

PRINCIPIO

La coloración de Ziehl-Neelsen es una técnica de coloración diferencial que se basa en que las paredes celulares de ciertos parásitos y bacterias contienen ácidos grasos (ácidos micólicos) de cadena larga (50 a 90 átomos de carbono) que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la coloración con colorantes básicos. Las micobacterias absorben los colorantes sólo muy lentamente debido a la elevada proporción de ceras y lípidos en la pared celular. Para acelerar la absorción del colorante fucsina y así la formación del complejo micolatofucsina en la pared celular, se calienta la solución de fucsina fenicada aplicada sobre el preparado normalmente hasta formación de vapores. Una vez las micobacterias han absorbido el colorante, difícilmente lo ceden a pesar del tratamiento con solución decolorante Alcohol-Acido. Por esto se denominan Bacilos alcohol ácido resistentes o BAAR y aparecen en el preparado microscópico teñidas de rojo, mientras que todos los microorganismos no resistentes a los ácidos se tiñen de acuerdo con la contratinción.

CONTENIDOS

R 1 **FUCSINA FENICADA B.K**. - Listo para su uso
Fucsina Básica, Fenol, Alcohol Etílico al 96%,
Agua Desmineralizada tipo II

R 2 **ALCOHOL ACIDO B.K.-** Listo para su uso
Ácido Nítrico, Alcohol Etílico al 96%,

R 3 **AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER**
- Listo para su uso.
Azul de Metileno, Alcohol Etilico al 96%, Agua desmineralizada tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 FUCSINA FENICADA B.K. y la solución R3 AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R2 ALCOHOL ÁCIDO B.K. es inflamable, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de coloración
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Esputos, biopsias por aspiración con aguja fina, líquidos de lavados, pus, exudados, pus, material de cultivos líquidos y sólidos.
Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme. Dejar que el frotis se seque al aire.

Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la coloración.

Nota: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una coloración atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA FENICADA B.K.
2. Calentar por 5 minutos suavemente (no dejar hervir) hasta obtener vapores renovando el colorante a medida que se evapore.
3. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
4. Decolorar con ALCOHOL ÁCIDO B.K. hasta que la solución de lavada salga incolora.
5. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
6. Cubrir la preparación con AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER por un (1) minuto.
7. Eliminar el exceso y dejar secar al aire.
8. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de coloración, decoloración y lavado.

RESULTADOS PREVISTOS

Micobacterias alcohol-ácido resistentes	**Rojas**
Otros gérmenes o células y fondo	**Azules**

Un hallazgo positivo significa "**presencia de bacilos Alcohol ácido resistentes**" y un hallazgo negativo significa "**ausencia de bacilos alcohol ácido resistentes**". No se puede diferenciar si se trata de micobacterias de la tuberculosis o de otras micobacterias, tampoco resulta posible verificar si se trata de bacterias activas o muertas. De encontrarse micobacterias, deberían realizarse análisis ulteriores en un laboratorio especial.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
Los controles pueden realizarse con pueden realizarse con bacilos alcohol ácido resistentes

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Algunas drogas utilizadas en el tratamiento de la tuberculosis, hacen perder la ácido-resistencia de los bacilos, observándose esta característica de las cepas sensibles a la isoniazida y a la alfa etiltioisonicotinamida (ethionamida).
- La reacción de coloración de Ziehl-Neelsen se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la coloración de Ziehl-Neelsen de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

FABRICANTE	Especialidades Diagnósticas IHR
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
00488	1.000 mL
00487	Galón

MATERIAL DE ENVASE Y/O EMPAQUE	
Envase de Polietileno de alta densidad (PEAD) con tapa rosca de polipropileno y tapón de Polietileno de alta densidad (PEAD) traslúcido. Envase de Polietileno Tereftalato (PET) ámbar con tapa rosca de polipropileno.	
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
El alcohol etílico 96% es un compuesto líquido incoloro de olor alcohólico, inflamable, soluble en agua, usado para fijación de muestras (citologías y biopsias), también se usa como combustible para mecheros de laboratorio.	
COMPONENTES Y/O MATERIALES	• Alcohol Etílico
ESPECIFICACIÓN	
DESCRIPCIÓN FÍSICA	Líquido incoloro de olor alcohólico.
DENSIDAD	(0,795 - 0,810) g/mL
GRADO ALCOHÓLICO	(94 - 98) °GL
ALMACENAMIENTO	
El producto debe ser almacenado bajo condiciones adecuadas (T: 15°C a 30°C y 40 - 70 % HR).	
TIEMPO DE VIDA ÚTIL	
24 meses bajo condiciones de almacenamiento adecuadas. La fecha de vencimiento se encuentra en la etiqueta del envase.	
REUSO	SI ☐ NO ☐ N/A ☒
RECOMENDACIONES	• Inflamable, tóxico por inhalación o ingestión • Evitar contacto con ojos y piel. • Para su manipulación usar EPP. • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de almacenamiento. • No verter por el desagüe. • Evitar condiciones de calentamiento.
ELIMINACIÓN	
Se deben eliminar los productos químicos siguiendo las reglamentaciones nacionales vigentes.	

COPIA DE DOCUMENTO

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	20/Feb/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ

 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 20/Feb/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 22/Feb/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 22/Feb/2023	 **Nombre:** Karen Paola Baena Reales **Cargo:** Director Tecnico de Reactivos de Diagnóstico IN-Vitro **Fecha:** 22/Feb/2023

COPIA DE DOCUMENTO

	FICHA TECNICA Y DE SEGURIDAD DE ANTI A	CODIGO: EB-10-1-1
		VERSION 09

DATOS TÉCNICOS

Identificación

Producto: Anti A

Marca: ELIPLUS DIAGNOSTIC

Especificaciones

Color: Azul

Aspecto: Traslucido

Olor: Característico

Usos: Diagnostico in Vitro. Determinación de Grupo Sanguíneo A

DATOS DE SEGURIDAD

Toxico por Ingestión. Evítese el contacto con los ojos

PRIMEROS AUXILIOS

En caso de inhalación, recibir aire fresco.
En caso de contacto con la piel, lavar con agua y retirar la ropa que haya sido contaminada.
En caso de contacto con los ojos, lavar con abundante agua manteniendo párpados abiertos.
En caso de ingestión, beber abundante agua, provocar vómito, acudir al médico.

Medidas en caso de accidente:

No inhalar los vapores y evitar el contacto con la sustancia. Usar ropa adecuada y máscara antigases.
En caso de emisión accidental evitar su vertimiento al alcantarillado.
Recoger con material absorbente.

Manipulación y almacenamiento:

Almacenar el recipiente bien cerrado.
Entre 2 Y 8°C
Manipular el producto con guantes de caucho o nitrilo y ropa apropiada en caso necesario.

Estabilidad:

Expresada en la etiqueta y observando las medidas de almacenamiento.

Presentación:

10 mL.

Los datos suministrados en este documento se basan en nuestro actual conocimiento, describiendo tan solo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo. Por lo anterior corresponde a la responsabilidad del usuario, decidir si estas informaciones son apropiadas y útiles.

	FICHA TECNICA Y DE SEGURIDAD DE ANTI B	CODIGO: EB-10-1-3
		VERSION 09

DATOS TÉCNICOS

Identificación

Producto: Anti B

Marca: ELIPLUS DIAGNOSTIC

Especificaciones

Color: Amarillo

Aspecto: Traslucido

Olor: Característico

Usos: Diagnostico in Vitro. Determinación de Grupo Sanguíneo B.

DATOS DE SEGURIDAD

Toxico por Ingestión. Evítese el contacto con los ojos

PRIMEROS AUXILIOS

En caso de inhalación, recibir aire fresco.
En caso de contacto con la piel, lavar con agua y retirar la ropa que haya sido contaminada.
En caso de contacto con los ojos, lavar con abundante agua manteniendo párpados abiertos.
En caso de ingestión, beber abundante agua, provocar vómito, acudir al médico.

Medidas en caso de accidente:

No inhalar los vapores y evitar el contacto con la sustancia. Usar ropa adecuada y máscara antigases.
En caso de emisión accidental evitar su vertimiento al alcantarillado.
Recoger con material absorbente.

Manipulación y almacenamiento:

Almacenar el recipiente bien cerrado.
Entre 2 Y 8°C
Manipular el producto con guantes de caucho o nitrilo y ropa apropiada en caso necesario.

Estabilidad:

Expresada en la etiqueta y observando las medidas de almacenamiento.

Presentación:

10 mL.

Los datos suministrados en este documento se basan en nuestro actual conocimiento, describiendo tan solo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo. Por lo anterior corresponde a la responsabilidad del usuario, decidir si estas informaciones son apropiadas y útiles.

	FICHA TECNICA Y DE SEGURIDAD DE ANTI D	CODIGO: EB-10-2-1
		VERSION 09

DATOS TÉCNICOS

Identificación

Producto: Anti D

Marca: ELIPLUS DIAGNOSTIC

Especificaciones

Color: Incoloro

Aspecto: Traslucido

Olor: Característico

Usos: Diagnostico in Vitro. Determinación de Rh.

DATOS DE SEGURIDAD

Toxico por Ingestión. Evítese el contacto con los ojos

PRIMEROS AUXILIOS

En caso de inhalación, recibir aire fresco.
En caso de contacto con la piel, lavar con agua y retirar la ropa que haya sido contaminada.
En caso de contacto con los ojos, lavar con abundante agua manteniendo párpados abiertos.
En caso de ingestión, beber abundante agua, provocar vómito, acudir al médico.

Medidas en caso de accidente:

No inhalar los vapores y evitar el contacto con la sustancia. Usar ropa adecuada y máscara antigases.
En caso de emisión accidental evitar su vertimiento al alcantarillado.
Recoger con material absorbente.

Manipulación y almacenamiento:

Almacenar el recipiente bien cerrado.
Entre 2 Y 8°C
Manipular el producto con guantes de caucho o nitrilo y ropa apropiada en caso necesario.

Estabilidad:

Expresada en la etiqueta y observando las medidas de almacenamiento.

Presentación:

10 mL.

Los datos suministrados en este documento se basan en nuestro actual conocimiento, describiendo tan solo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo. Por lo anterior corresponde a la responsabilidad del usuario, decidir si estas informaciones son apropiadas y útiles.

FABRICANTE	Especialidades Diagnósticas IHR
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
00614	50 mL
08241	100 mL
08242	250 mL
08243	500 mL
08244	1.000 mL

MATERIAL DE ENVASE Y/O EMPAQUE	
Envase de vidrio ámbar con tapa rosca de polipropileno.	
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
El Anticoagulante Citrato de Sodio al 3,8% es un líquido incoloro e inodoro que inhibe la participación del ión calcio en la cascada de la coagulación de la sangre (actuando como secuestrante del ión calcio). El Anticoagulante Citrato de Sodio al 3,8% es el anticoagulante de elección para el trabajo en los estudios de coagulación tales como: tiempo de protrombina, determinación de fibrinógeno, otros factores de coagulación y otras determinaciones que requieren sangre citratada.	
COMPONENTES Y/O MATERIALES	• Tri-Sodio Citrato di-Hidrato
ESPECIFICACIÓN	
DESCRIPCIÓN FÍSICA	Líquido incoloro e inodoro.
CONCENTRACIÓN	(3,70 – 3,90) %
ALMACENAMIENTO	
El producto debe ser almacenado bajo condiciones adecuadas (T: 15°C a 30°C y 40 - 70 % HR).	
TIEMPO DE VIDA ÚTIL	
12 meses bajo condiciones de almacenamiento adecuadas. La fecha de vencimiento se encuentra en la etiqueta del envase.	
REUSO	SI ☐ NO ☐ N/A ☒
RECOMENDACIONES	• Nocivo por ingestión • Evitar contacto con ojos y piel. • Para su manipulación usar EPP. • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de almacenamiento. • No verter por el desagüe.
ELIMINACIÓN	
Se deben eliminar los productos químicos siguiendo las reglamentaciones nacionales vigentes.	

COPIA DE DOCUMENTO

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	20/Feb/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución

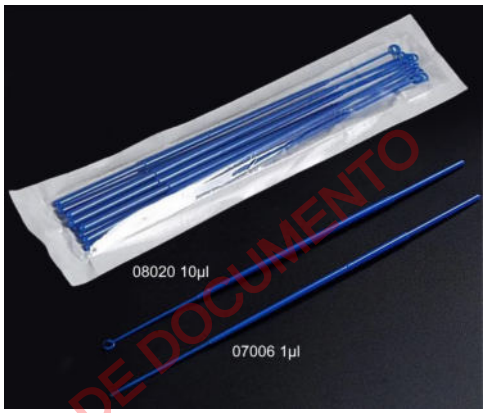
ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 20/Feb/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 22/Feb/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 22/Feb/2023	 **Nombre:** Karen Paola Baena Reales **Cargo:** Director Tecnico de Reactivos de Diagnóstico IN-Vitro **Fecha:** 27/Feb/2023

COPIA DE DOCUMENTO

ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA ASA BACT CALIBRADA DESECH 10 MICROLITROS FLEXIBLE PAQUETE X 1000	CÓDIGO: FT-CID-117 VERSIÓN: 2 FECHA: 27/Mar/2023

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
08020	Paquete x 1000 Unidades

MATERIAL	
ABS (Acrilonitrilo butadieno estireno)  	
DIMENSIÓN	• Longitud: 230 mm • Volumen: 0,01 mL (10 µL)
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Un asa bacteriológica (también llamada asa de frotis, varita de inoculación o microestrías) es una herramienta simple utilizada principalmente por microbiólogos para recoger y transferir una pequeña muestra de microorganismos llamada inóculo de un cultivo microbiano, para sembrar en una placa de cultivo. este proceso se llama inoculación. La herramienta consta de un mango delgado con un aro en el extremo. Los aros son lo suficientemente suaves como para no dañar la superficie del gel. Las asas bacteriológicas están listas para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlas y tomar las medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI [X] NO [ ] N/A [ ]
REUSO	SI [ ] NO [X] N/A [ ]
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de usoy almacenamiento.

COPIA DE DOCUMENTO

ELIMINACIÓN
• Si el Asa bacteriológica ha tenido contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riego biológico. • Si el Asa bacteriológica No ha tenido contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/Ene/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución
2	27/Mar/2023	Se incluye fotografía del producto.

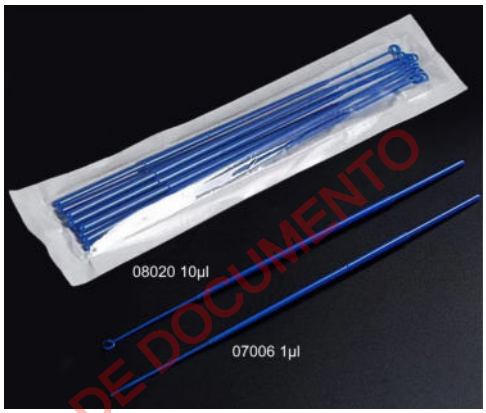
ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 03/Abr/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 04/Abr/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 04/Abr/2023	 **Nombre:** Karen Paola Baena Reales **Cargo:** Director Tecnico de Reactivos de Diagnóstico IN-Vitro **Fecha:** 09/Abr/2023

COPIA DE DOCUMENTO

ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA ASA BACT CALIBRADA DESECH 1 MICROLITRO FLEXIBLE PAQUETE X 1000	CÓDIGO: FT-CID-116 VERSIÓN: 2 FECHA: 27/Mar/2023

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
07006	Paquete x 1000 Unidades

MATERIAL	
ABS (Acrilonitrilo butadieno estireno)  	
DIMENSIÓN	• Longitud: 230 mm • Volumen: 0,001 mL (1µL)
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Un asa bacteriológica (también llamada asa de frotis, varita de inoculación o microestrías) es una herramienta simple utilizada principalmente por microbiólogos para recoger y transferir una pequeña muestra de microorganismos llamada inóculo de un cultivo microbiano, para sembrar en una placa de cultivo. este proceso se llama inoculación. La herramienta consta de un mango delgado con un aro en el extremo. Los aros son lo suficientemente suaves como para no dañar la superficie del gel. Las asas bacteriológicas están listas para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlas y tomar las medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI [X] NO [ ] N/A [ ]
REUSO	SI [ ] NO [X] N/A [ ]
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de usoy almacenamiento.

COPIA DE DOCUMENTO

ELIMINACIÓN
• Si el Asa bacteriológica ha tenido contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riego biológico. • Si el Asa bacteriológica No ha tenido contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/Ene/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución
2	27/Mar/2023	Se incluye fotografía del producto.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 03/Abr/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 04/Abr/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 04/Abr/2023	 **Nombre:** Karen Paola Baena Reales **Cargo:** Director Tecnico de Reactivos de Diagnóstico IN-Vitro **Fecha:** 09/Abr/2023

COPIA DE DOCUMENTO

BENEDICT CUALITATIVO

Reactivo para la determinación de sustancias reductoras en Orina y Materia Fecal.

REF	Código	Presentación
	07772	125 mL
	07792	250 mL

PRINCIPIO

El método cualitativo de Benedict es una reacción de oxidación, que ayuda al reconocimiento de azúcares reductores, es decir, aquellos compuestos que presentan su OH anomérico libre, como por ejemplo la glucosa, lactosa, maltosa o celobiosa, en la reacción de Benedict, se reduce el Cu^{2+} que presenta un color azul, en un medio alcalino, el ión cúprico (otorgado por el sulfato cúprico) es capaz de reducirse por efecto del grupo aldehído del azúcar (CHO) a su forma de Cu^{+}. Este nuevo ion se observa como un precipitado rojo ladrillo correspondiente al óxido cuproso (Cu_2O), que precipita de la solución alcalina con un color rojo-naranja, a este precipitado se lo considera como la evidencia de que existe la presencia de sustancias reductoras en la muestra.

SIGNIFICANCIA CLÍNICA

Tiene importancia clínica para detectar deficiencia de enzimas intestinales como la lactosa debido a una deficiencia congénita o daños in-específicos a la mucosa. Los azúcares son rápidamente absorbidos por la porción superior del intestino delgado. Sin embargo pueden permanecer en el intestino y causar diarreas, ocasionadas por la presión osmótica de los azúcares no absorbidos en el intestino. Esta prueba se realiza en pacientes que se sospecha son intolerantes a la lactosa. La intolerancia a la lactosa se produce cuando el intestino delgado no produce suficiente lactasa.

CONTENIDOS

R 1 **REACTIVO BENEDICT**
Sodio carbonato anhidro, Sodio citrato, Cobre sulfato 5-hidrato, Agua desmineralizada.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El reactivo está listo para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conservado entre 15°C y 30°C y protegido de la luz, estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Solo para uso diagnóstico profesional in vitro.
- Se debe leer y seguir cuidadosamente las instrucciones del procedimiento de ensayo con el objetivo de realizarlo en forma correcta.
- Todas las muestras deberían considerarse potencialmente peligrosas y manipularse como si se tratara de un medio infeccioso.
- No utilice el reactivo si hay evidencia de deterioro.
- Una vez utilizado, debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Baño termo-regulado (95-100°C) o Mechero
- Gradilla.
- Tubos de ensayo de vidrio refractario.
- Pipetas de volumen variable.

MUESTRAS

- Orina espontánea sin centrifugar.
- Materia fecal fresca.

PROCEDIMIENTO

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizará el ensayo. Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

MUESTRA DE ORINA

	BLANCO	*MUESTRA*
REACTIVO BENEDICT	2,5 mL	2,5 mL
ORINA	-	6 Gotas
AGUA DESTILADA	6 Gotas	-

Mezclar y calentar 2 minutos en mechero o 3 a 5 minutos en agua en ebullición. Examinar inmediatamente para saber si hay cambios de color o precipitados

MUESTRA DE MATERIA FECAL

	BLANCO	*MUESTRA*
REACTIVO BENEDICT	2,5 mL	2,5 mL
MATERIA FECAL	-	3 gotas si es liquida ó cantidad de un asa de 10µL si es solida
AGUA DESTILADA	6 Gotas	-

Mezclar y calentar 2 minutos en mechero o 3 a 5 minutos en agua en ebullición. Examinar inmediatamente para saber si hay cambios de color o precipitados

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Utilice buena iluminación durante la interpretación de resultados.
La prueba se lee calificando el color y cualquier precipitado que se forme. Se informa en una escala que va, desde cero (0) hasta cuatro cruce (++++) con el siguiente criterio:

CARACTERÍSTICAS Color-Aspecto	RESULTADO	CONCENTRACIÓN APROXIMADA DE GLUCOSA (mg/100mL)
Azul transparente	**Negativo**	**0**
Verde sin Precipitado	**Huellas**	**0-100**
Verde con precipitado Amarillo	**+**	**250**
Verde Oliva	**++**	**800**
Naranja	**+++**	**1400**
Naranja o Rojo Ladrillo.	**++++**	**2000 ó más**

VALORES DE REFERENCIA

La prueba en orina y materia fecal de niños o adultos es **NEGATIVA**.
Niños durante sus primeros 5 días de vida pueden excretar galactosa que da reacción positiva.

CONTROL DE CALIDAD

Puede ser empleada una solución de Glucosa 0,1M (180mg de Glucosa Anhidra en 10mL de Agua Destilada)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

SENSIBILIDAD

La sensibilidad de la prueba bajo condiciones óptimas es aproximadamente 30-50 mg de glucosa por 100 mL. La prueba **no es específica para glucosa**, la reducción de cobre por otras sustancias presentes en la orina y materia fecal la hacen específica para sustancias reductoras en la muestra (ver interferencias).

INTERFERENCIAS

Entre las sustancias existentes en la orina capaces de reducir el cobre por medio del reactivo de Benedict tenemos:

Fructosa	Creatinina	Ácido Glucorónico
Lactosa	Cisteína	Glucoronatos conjugados
Galactosa	Cuerpos Cetónicos	Caronamida
Maltosa	Sulfanilamida	Cloral
Arabinosa	Ciertos Aminoácidos	Formaldehído
Xilosa	Ácido Oxálico	Isoniacidas
Ribosa	Sustancias Fenólicas	Ácido P. Aminosalicilico
Ácido Úrico	Ácido Hipúrico	Salicilatos
Ácido Ascórbico	Ácido Homogentísico	Cincófeno
Uranatos	Ácido Salicilúrico.	

Interferencia por Medicamentos:
La terramicina, estreptomicina, clorotetraciclina y la cloromicetina dan resultados falsos positivos cuando se encuentran en concentraciones elevadas de 10 mg/mL. Ni la penicilina (100.000 unidades/mL) ni la sulfanilamida interfieren con los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Benedict S.R: J.Am.Med Assoc 57:1194, 1911
2. Benedict S.R: J.Biochem 5:485, 1909
3. Karper J. Am.J. Clin. Path. 8: 1172, 1944

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR
Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

2019-10v2

ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA AZUL DE METILENO FOSFATADO	CÓDIGO: FT-CID-144
		VERSIÓN: 1
		FECHA: 21/Feb/2023

FABRICANTE	Especialidades Diagnósticas IHR
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
00766	250 mL
00767	500 mL
08079	1.000 mL

MATERIAL DE ENVASE Y/O EMPAQUE	
Envase de Polietileno Tereftalato (PET) Ámbar con tapa rosca de polipropileno. Envase de Polietileno de Alta Densidad (PEAD) blanco con tapa rosca de polipropileno.	
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
El Azul de metileno fosfatado es un reactivo de color azul e inodoro que compone la coloración Giemsa, la cual se utiliza para el diagnóstico celular y se emplea en el examen de muestras de origen humano. Se trata de una coloración que junto con otros materiales de diagnóstico In Vitro, hace evaluables, determinadas estructuras en material de examen hematológico e histológico humano y clínico-citológico.	
COMPONENTES Y/O MATERIALES	• Azul de metileno R.P. • Potasio dihidrógeno fosfato. • Di-sodio Hidrógeno fosfato anhidro.
ESPECIFICACIÓN	
DESCRIPCIÓN FÍSICA	Líquido color azul e inodoro.
ABSORBANCIA	(0,570 – 0,870)
TINCIÓN	Uniforme.
PRUEBA DE DESEMPEÑO	Estructuras bien definidas. Ausencia de precipitado.
ALMACENAMIENTO	
El producto debe ser almacenado bajo condiciones adecuadas (T: 15°C a 30°C y 40 - 70 % HR).	
TIEMPO DE VIDA ÚTIL	
24 meses bajo condiciones de almacenamiento adecuadas. La fecha de vencimiento se encuentra en la etiqueta del envase.	
REUSO	SI [ ] NO [ ] N/A [X]
RECOMENDACIONES	• Nocivo por ingestión • Evitar contacto con ojos y piel. • Para su manipulación usar EPP. • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de almacenamiento. • No verter por el desagüe.
ELIMINACIÓN	
Se deben eliminar los productos químicos siguiendo las reglamentaciones nacionales vigentes.	

COPIA DE DOCUMENTO

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	21/Feb/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 21/Feb/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 22/Feb/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 22/Feb/2023	 **Nombre:** Karen Paola Baena Reales **Cargo:** Director Tecnico de Reactivos de Diagnóstico IN-Vitro **Fecha:** 27/Feb/2023

COPIA DE DOCUMENTO

COLORACIÓN BK

Juego de soluciones para la coloración de micobacterias según Ziehl-Neelsen para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos de coloración B.K. se utilizan para teñir frotis preparados a partir de muestras y cultivos que se sospecha que contienen micobacterias, para el diagnóstico de sospecha precoz de infección micobacteriana y la caracterización de aislados bacterianos.

PRINCIPIO

La coloración de Ziehl-Neelsen es una técnica de coloración diferencial que se basa en que las paredes celulares de ciertos parásitos y bacterias contienen ácidos grasos (ácidos micólicos) de cadena larga (50 a 90 átomos de carbono) que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la coloración con colorantes básicos. Las micobacterias absorben los colorantes sólo muy lentamente debido a la elevada proporción de ceras y lípidos en la pared celular. Para acelerar la absorción del colorante fucsina y así la formación del complejo micolatofucsina en la pared celular, se calienta la solución de fucsina fenicada aplicada sobre el preparado normalmente hasta formación de vapores. Una vez las micobacterias han absorbido el colorante, difícilmente lo ceden a pesar del tratamiento con solución decolorante Alcohol-Acido. Por esto se denominan Bacilos alcohol ácido resistentes o BAAR y aparecen en el preparado microscópico teñidas de rojo, mientras que todos los microorganismos no resistentes a los ácidos se tiñen de acuerdo con la contratinción.

CONTENIDOS

R 1 **FUCSINA FENICADA B.K**. - Listo para su uso
Fucsina Básica, Fenol, Alcohol Etílico al 96%,
Agua Desmineralizada tipo II

R 2 **ALCOHOL ACIDO B.K.-** Listo para su uso
Ácido Nítrico, Alcohol Etílico al 96%,

R 3 **AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER**
- Listo para su uso.
Azul de Metileno, Alcohol Etilico al 96%, Agua desmineralizada tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 FUCSINA FENICADA B.K. y la solución R3 AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R2 ALCOHOL ÁCIDO B.K. es inflamable, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de coloración
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Esputos, biopsias por aspiración con aguja fina, líquidos de lavados, pus, exudados, pus, material de cultivos líquidos y sólidos.
Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme. Dejar que el frotis se seque al aire.

Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la coloración.

Nota: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una coloración atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA FENICADA B.K.
2. Calentar por 5 minutos suavemente (no dejar hervir) hasta obtener vapores renovando el colorante a medida que se evapore.
3. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
4. Decolorar con ALCOHOL ÁCIDO B.K. hasta que la solución de lavada salga incolora.
5. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
6. Cubrir la preparación con AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER por un (1) minuto.
7. Eliminar el exceso y dejar secar al aire.
8. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de coloración, decoloración y lavado.

RESULTADOS PREVISTOS

Micobacterias alcohol-ácido resistentes	**Rojas**
Otros gérmenes o células y fondo	**Azules**

Un hallazgo positivo significa "**presencia de bacilos Alcohol ácido resistentes**" y un hallazgo negativo significa "**ausencia de bacilos alcohol ácido resistentes**". No se puede diferenciar si se trata de micobacterias de la tuberculosis o de otras micobacterias, tampoco resulta posible verificar si se trata de bacterias activas o muertas. De encontrarse micobacterias, deberían realizarse análisis ulteriores en un laboratorio especial.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
Los controles pueden realizarse con pueden realizarse con bacilos alcohol ácido resistentes

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Algunas drogas utilizadas en el tratamiento de la tuberculosis, hacen perder la ácido-resistencia de los bacilos, observándose esta característica de las cepas sensibles a la isoniazida y a la alfa etiltioisonicotinamida (ethionamida).
- La reacción de coloración de Ziehl-Neelsen se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la coloración de Ziehl-Neelsen de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

CALCIO CLORURO 0,025M

Solución para uso en pruebas de coagulación

	Código	Presentación
REF	01144	4 x 10 mL
	08181	4 x 30 mL
	08182	50 mL
	08183	100 mL

USO PREVISTO

El reactivo CALCIO CLORURO 0,025M se utiliza en la prueba de Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA o PTT por sus siglas en Ingles) actuando como activador de formación del coagulo de Fibrina.

PRINCIPIO

El Calcio Cloruro 0,025M es una óptima fuente de iones calcio para su uso en las pruebas de TTPA en los que se requiere la adición de Calcio Cloruro 0,025M.
Las muestras de plasma que se extraen para el análisis de las pruebas de coagulación, se recogen en tubos que contienen un anticoagulante que bloquea el calcio (Citrato Sódico). El análisis de las muestras recolectadas en dichos tubos requiere la sustitución del calcio que se ha unido al anticoagulante. Esto se consigue con la adición de un volumen apropiado de una Solución de Calcio Cloruro 0,025M.

CONTENIDO

R 1 **CALCIO CLORURO 0,025M - Listo para su uso**
Calcio Cloruro anhidro, Agua desmineralizada Tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Reactivo para Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA o PTT).
- Los materiales necesarios para la realización de las pruebas de acuerdo al reactivo para Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA o PTT) a utilizar.
- Los demás materiales necesarios para la recolección de las muestras.

MUESTRAS

Recoger nueve partes de sangre recién extraída por punción venosa sobre una parte de anticoagulante citrato de sodio al 3,8%.
Para la recolección, manipulación y conservación de la muestra seguir las recomendaciones y procedimientos establecidos por el laboratorio.
Las muestras de sangre para determinación de tiempo de protrombina pueden conservarse hasta 8 horas después de la extracción. Sangres conservadas a 4 ºC durante siete días, mantuvieron constante la actividad de los factores V y VII.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

Este reactivo es un auxiliar en la prueba de Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA o PTT por sus siglas en Ingles) para los estuches de prueba que no proveen el Calcio Cloruro 0,025M.

Para su forma de uso favor referirse a la técnica o inserto del estuche de Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA o PTT por sus siglas en Ingles) TTPA o PTT de la casa comercial disponible en su laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Miale, J.; La Fond, D., Am. J. Clin. Path. 52/2:154 (1969).
2. Mustard, J. F., Am. J. Clin. Path. 30:498 (1958).
3. International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) - Am. J. Clin. Path. 68/4:505 (1977).

Índice de Símbolos					
IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

2019-10v4

TECHLAB®

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

ENGLISH p. 3
A Rapid Membrane Enzyme Immunoassay for the Simultaneous Detection of *Clostridium difficile* Glutamate Dehydrogenase Antigen and Toxins A and B in Fecal Specimens
Catalog No. T30525C (25 Tests) or T30550C (50 Tests)
For Canadian Users: For Laboratory Use Only

ESPAÑOL pág. 9
Inmunoensayo enzimático rápido de membrana para la detección simultánea del antígeno glutamato deshidrogenasa de *Clostridium difficile* y de toxinas A y B en muestras fecales
N.º de catálogo T30525C (25 ensayos) o T30550C (50 ensayos)

DEUTSCH s. 15
Ein Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den gleichzeitigen Nachweis des *Clostridium difficile*-Antigens Glutamatdehydrogenase sowie Toxin A und B in Stuhlproben
Katalog-Nr. T30525C (25 Tests) bzw. T30550C (50 Tests)

FRANCAISE p. 21
Dosage immunoenzymatique membranaire rapide pour la détection simultanée de l'antigène glutamate déshydrogénase *Clostridium difficile* et des toxines A et B dans les échantillons de selles
Numéro de Catalogue T30525C (25 Tests) ou T30550C (50 Tests)
Pour les utilisateurs canadiens: Pour usage en laboratoire seulement

ČEŠTINA str. 27
Rychlá membránová enzymová imunoanalýza pro současnou detekci antigenu glutamát dehydrogenázy a toxinů A a B Clostridium difficile ve vzorcích stolice
Katalogové číslo T30525C (25 testy) nebo T30550C (50 testů)

DANSK s. 33
En hurtig membran-enzym-immunassay til samtidig påvisning af *Clostridium difficile*-antigenet glutamatdehydrogenase samt toksin A og B i fæcesprøver
Katalog nr. T30525C (25 test) eller T30550C (50 test)

ΕΛΛΗΝΙΚΑ σελ. 39
Μια ταχεία ανάλυση ενζυμικού ανοσοπροσδιορισμού σε μεμβράνη για την ταυτόχρονη ανίχνευση του αντιγόνου «γλουταμικής δεσυδρογονάσης» του *Clostridium difficile* και των τοξινών Α και Β σε δείγματα κοπράνων
Αρ. καταλόγου T30525C (25 αναλύσεις) ή T30550C (50 αναλύσεις)

MAGYAR 45. o.
Gyors membrán enzim immunoassay a *Clostridium difficile* glutamát-dehidrogenáz antigén, valamint az A és a B toxin egyidejű kimutatásra székletmintákban
Katalógussz.: T30525C (25 teszt) vagy T30550C (50 teszt)

ITALIANO p. 51
Un dosaggio immunoenzimatico rapido a membra per il rilevamento simultaneo dell'antigene glutammato deidrogenasi e delle tossine A e B di *Clostridium difficile* in campioni fecali
N. di catalogo T30525C (25 test) o T30550C (50 test)

NEDERLANDS p. 57
Een snel membraanenzymimmuno-assay voor de gelijktijdige detectie van *Clostridium difficile*-glutamaatdehydrogenase-antigen en de toxinen A en B in fecale monsters
Catalogusnr. T30525C (25 testen) of T30550C (50 testen)

NORSK s. 63
En hurtig membranenzymimmunanalyse for samtidig påvisning av *Clostridium difficile* glutamatdehydrogenase-antigen og toksin A og B i avføringsprøver
Katalognr. T30525C (25 tester) eller T30550C (50 tester)

SVENSKA sid. 69
En snabb immunoanalys av membranenzym för samtidigt påvisande av *Clostridium difficile*glutamatdehydrogenasantigen och toxinerna A och B i feacesprover
Katalognr. T30525C (25 tester) eller T30550C (50 tester)

TÜRKÇE syf. 75
Clostridium difficile Glutamat Dehidrojenazı Antijeni ile A ve B Toksinleri Saptaması için Hızlı Bir Membran Enzimi Bağışıklık Testi
Katalog No. T30525C (25 Test) ya da T30550C (50 Test)

РУССКИЙ с. 81
Мембранный иммуноферментный экспресс-анализ для одновременного обнаружения антигенов глутаматдегидрогеназы и токсинов A и B *Clostridium difficile* в пробах фекалий
№ по каталогу: T30525C (25 тестов) или T30550C (50 тестов)

PORTUGUÊS p. 87
Um Ensaio Imunoenzimático Rápido de Membrana para a Deteção Simultânea de *Clostridium difficile*, Antígeno glutamato desidrogenase e Toxinas A e B em Amostras Fecais Specimens
Catálogo N.º T30525C (25 Testes) ou T30550C (50 Testes)

U. S. Patent #8,343,726

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

INTENDED USE

The TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* test is a rapid membrane enzyme immunoassay for the simultaneous detection of *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenase antigen and toxins A and B in a single reaction well. The test detects *C. difficile* antigen, glutamate dehydrogenase, as a screen for the presence of *C. difficile* and confirms the presence of toxigenic *C. difficile* by detecting toxins A and B in fecal specimens from persons suspected of having *C. difficile* disease. The test is to be used as an aid in the diagnosis of *C. difficile* disease. As with other *C. difficile* tests, results should be considered in conjunction with the patient history.

EXPLANATION

After treatment with antibiotics, many patients develop gastrointestinal problems ranging from mild diarrhea to severe pseudomembranous colitis. Many cases of the milder forms of gastrointestinal illness and most cases of pseudomembranous colitis are caused by toxigenic strains of *Clostridium difficile* (1). This organism is an opportunistic anaerobic bacterium that grows in the intestine once the normal flora has been altered by the antibiotic. Toxigenic strains of *C. difficile* carry the genes encoding the toxins while non-toxigenic strains do not carry the toxin genes. Disease onset is associated with the toxins that are produced by the toxigenic organism. The clinical symptoms associated with the disease are believed to be primarily due to toxin A, which is a tissue-damaging enterotoxin (2,3). *C. difficile* also produces a second toxin, designated toxin B. Toxin B, which has been referred to as the cytotoxin of the organism, is the toxin detected by the tissue culture assay currently used by many laboratories. Toxigenic *C. difficile* strains produce both toxins, or only toxin B (4-7). The glutamate dehydrogenase of *C. difficile* is a good antigen marker for the organism in feces because it is produced in high amounts by all strains, toxigenic or non-toxigenic (8-10). The antigen can be detected in fecal specimens by using the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* test. A positive result in the test for the glutamate dehydrogenase of *C. difficile* confirms the presence of this organism in a fecal specimen; a negative result indicates the absence of the organism. A positive result in the test for toxins A and B confirms the presence of toxigenic *C. difficile*.

PRINCIPLE OF THE TEST

The *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* test uses antibodies specific for glutamate dehydrogenase and toxins A and B of *C. difficile*. The device contains a *Reaction Window* with three vertical lines of immobilized antibodies. The antigen test line ("Ag") contains antibodies against *C. difficile* glutamate dehydrogenase. The control line ("C") is a dotted line that contains anti-horseradish peroxidase (HRP) antibodies. The toxins A and B test line ("Tox") contains antibodies against *C. difficile* toxins A and B. The *Conjugate* consists of antibodies to glutamate dehydrogenase and antibodies to toxins A and B coupled to horseradish peroxidase. To perform the test, the sample is added to a tube containing a mixture of *Diluent* and *Conjugate*. The diluted sample-conjugate mixture is added to the *Sample Well* and the device is allowed to incubate at room temperature for 15 minutes. During the incubation, any glutamate dehydrogenase and toxins A and B in the sample bind to the antibody-peroxidase conjugates. The antigen-antibody-conjugate complexes migrate through a filter pad to a membrane where they are captured by the immobilized glutamate dehydrogenase-specific and toxins A and B-specific antibodies in the lines. The *Reaction Window* is subsequently washed with *Wash Buffer*, followed by the addition of *Substrate*. After a 10 minute incubation period, the "Ag" reaction is examined visually for the appearance of a vertical blue line on the "Ag" side of the *Reaction Window*. A blue line indicates a positive test. If the "Ag" is positive, then the "Tox" reaction should be examined visually for the appearance of a blue line on the "Tox" side of the *Reaction Window*. A blue line indicates a positive test. A positive "C" reaction, indicated by a vertical dotted blue line under the "C" portion of the *Reaction Window*, confirms that the test is working properly and the results are valid.

MATERIALS PROVIDED

MEM | DEV — ***Membrane Devices*** – each pouch contains 1 device

DIL | SPE — ***Diluent*** **(22 mL per bottle)** – Buffered protein solution with graduated dropper assembly (contains 0.05% ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Wash Buffer*** **(12 mL per bottle)** – Buffered solution with graduated dropper assembly (contains 0.05% ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Substrate*** **(3.5 mL per bottle)** – Solution containing tetramethylbenzidine

CONJ | ENZ — ***Conjugate*** **(2.5 mL per bottle)** – Antibody specific for glutamate dehydrogenase coupled to horseradish peroxidase and antibodies specific for toxins A and B coupled to horseradish peroxidase in a buffered protein solution (contains 0.05% ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Positive Control*** **(2 mL)** – Antigen in a buffered protein solution

Disposable plastic transfer pipettes – graduated at 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL and 500 µL

IVD — For *in vitro* diagnostic use

*Signal Word: Warning
H317: May cause an allergic skin reaction
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Small test tubes (e.g., plastic microcentrifuge tubes or glass tubes)
Applicator sticks — *Timer* — *Vortex mixer*
Disposable gloves for handling fecal samples — *Pipettor and tips*

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of the kit is given on the label. Expiration dates for each component are listed on the individual labels. The kit should be stored between 2°C and 8°C.

PRECAUTIONS

1. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.
2. Reagents from different kits should not be mixed or interchanged. Do not use a kit past the expiration date.
3. Each component in the kit should be inspected for any signs of leakage. Upon arrival, inspect the kit to ensure that components are not frozen or warm to the touch due to improper shipping conditions.
4. Bring all components to ROOM TEMPERATURE BEFORE USE!

For Instructional Use Only

EN

5. Caps, tips and dropper assemblies are color-coded; do NOT mix or interchange!
6. Do not freeze the reagents. The kit should be stored between 2°C and 8°C.
7. The pouch containing the *Membrane Device* should be at room temperature before opening. Keep the membrane devices dry before use.
8. Use fecal specimens within 72 hours of collection to obtain optimal results. Specimens that are frozen may lose activity due to freezing and thawing. If using frozen specimens, thaw at room temperature.
9. Hold reagent bottles vertically to dispense reagents to ensure consistent drop size and correct volume.
10. Specimens and membrane devices should be handled and disposed of as potential biohazards after use.
11. Membrane devices cannot be reused.
12. The test has been optimized for sensitivity and specificity. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test. Do not deviate from the specified procedure.
13. Be attentive to the total assay time when testing more than one fecal specimen. Add *Diluent* first, and then add the *Conjugate* to each tube of *Diluent*. Then add specimen to the tube of *Diluent/Conjugate*. Thoroughly mix all of the diluted specimens, and transfer to the *Membrane Device*. The 15-minute incubation step begins after the last diluted sample-conjugate mixture has been transferred to the final *Membrane Device*.
14. If the *Substrate* reagent changes to a dark blue/violet color call technical services for replacement.
15. Fecal specimens may contain potentially infectious agents and should be handled at "Biosafety Level 2" as recommended in the CDC/NIH Manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories."
16. Wear disposable gloves when doing the test.
17. The *Conjugate, Diluent,* and *Wash Buffer* reagents contain 0.05% ProClin® 300 as a preservative. Although the concentration is low, ProClin® 300 is known to be harmful (skin sensitization may occur). If skin sensitization/irritation or rash occurs, get medical advice/attention. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
18. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations.

COLLECTION, HANDLING AND STORAGE OF FECAL SPECIMENS

Acceptable Sample Types
Fresh Fecal Specimens
Frozen Fecal Specimens
Specimens in transport media (Cary Blair, C&S)

Do Not Use
Fecal specimens in Formalin-based fixative (e.g. sodium acetate formalin, 10% formalin, merthiolate formalin)
Fecal specimens in alcohol-based fixative (e.g. polyvinyl alcohol)

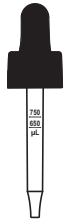
Sample Storage Temperature	Acceptable length of storage	Comments
2°C – 8°C	72 hours	Ideal specimens are less than 24 hours old
Frozen ≤ -10°C	Longer than 72 hours	Thaw at room temperature. Freezing and thawing multiple times may result in loss of specimen activity due to toxin degradation.

1. Standard collection and handling procedures used in-house for fecal specimens are appropriate.
2. Fecal specimens should be collected in clean, leak-proof containers.
3. Storing fecal specimens in the *Diluent* is NOT recommended.
4. Do not allow the fecal specimens to remain in the *Diluent/Conjugate* mixture for >24 hours.

SPECIMEN PREPARATION

1. Bring all reagents and the required number of devices to room temperature before use. It is recommended to remove the reagents from the foam insert to reduce the time needed to warm to room temperature.
2. Set up and label one small test tube for each specimen, and optional external controls as necessary.
3. Using the black graduated dropper assembly, add 750 µL (2nd graduation from the tip) *Diluent* to each tube for fecal specimens. **For specimens in transport media such as Cary Blair or C&S, add 650 µL (1st graduation from the tip) of *Diluent* to the tube.**

Sample Type	Volume of *Diluent*
Fresh Fecal Specimens	750 µL (2nd graduation from tip)
Frozen Fecal Specimens (frozen undiluted)	750 µL (2nd graduation from tip)
Specimens in transport media (Cary Blair, C&S)	650 µL (1st graduation from the tip)
External Controls (positive and negative)	750 µL (2nd graduation from tip)



4. Add one drop of *Conjugate* (red capped bottle) to each tube.
5. Obtain one disposable plastic transfer pipette (supplied with the kit) for each sample – the pipettes have raised graduations at 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL and 500 µL.

Graduated Transfer Pipette:



6. **Mix all specimens thoroughly regardless of consistency- it is essential that the specimens be evenly suspended before transferring.**
   Liquid/Semi-solid specimens – pipette 25 µL of specimen with a transfer pipette and dispense into the *Diluent/Conjugate* mixture. Use the same transfer pipette to mix the diluted specimen.
   Formed/Solid specimens – Care must be taken to add the correct amount of formed feces to the sample mixture. Mix the specimen thoroughly using a wooden applicator stick and transfer a small portion (approximately 2 mm diameter, the equivalent of 25 µL) of the specimen into the Diluent/Conjugate mixture. Emulsify the specimen using the applicator stick.

For Instructional Use Only

EN

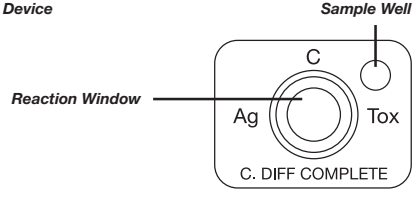
Fecal specimens in Cary Blair or C&S transport media - pipette 100 µL (2nd graduation from tip of transfer pipette) of sample into the *Diluent/Conjugate* mixture.

7. **Optional External Control Samples:**
   External Positive Control - add one drop of *Positive Control* (gray-capped bottle) into the *Diluent/Conjugate* mixture.
   External Negative Control - add 25 µL *Diluent* into the *Diluent/Conjugate* mixture.

NOTE: Transferring too little specimen, or failure to mix and completely suspend the specimen in the Diluent/Conjugate mixture, may result in a false-negative test result. The addition of too much fecal specimen may cause invalid results due to restricted sample flow.

TEST PROCEDURE

1. Obtain one *Membrane Device* per specimen, and one device per optional external positive or negative control as necessary. The foil bags containing the devices should be brought to room temperature before opening. Use the device immediately after opening. Label each device appropriately and orient it on a flat surface so the "C. DIFF COMPLETE" print is at the bottom of the device, and the small *Sample Well* is located in the top right corner of the device.



2. Close each tube of diluted specimen and mix thoroughly. Proper mixing can be achieved by vortexing or inverting the tube. Once a patient sample or *Positive Control* has been diluted in the *Diluent/Conjugate* mixture, it may be incubated at room temperature for any period of time up to 24 hours prior to addition to the *Membrane Device*.
3. Using a new transfer pipette, transfer 500 µL of the diluted sample-conjugate mixture into the ***Sample Well*** (smaller hole in the top right corner of the device) of a *Membrane Device*, making certain to expel the liquid sample onto the wicking pad inside of the *Membrane Device*. When loading the sample into the sample well, make sure that the tip of the transfer pipette is angled towards the *Reaction Window* (larger hole in the middle of the device).
4. Incubate the device at room temperature for 15 minutes – the sample will wick through the device and a wet area will spread across the *Reaction Window*.
   NOTE FOR SAMPLES THAT FAIL TO MIGRATE:
   Occasionally, a diluted sample fails to migrate properly and the Reaction Window does not fully wet. If the Reaction Window does not appear to be completely wet within 5 minutes of adding the sample to the Sample Well, then add 100 µL (4 drops) of Diluent to the Sample Well and wait an additional 5 minutes (for a total of 20 minutes).
5. After the incubation, add 300 µL of *Wash Buffer* to the ***Reaction Window*** using the graduated white dropper assembly. Allow the *Wash Buffer* to flow through the Reaction Window membrane and be absorbed completely.
6. Add 2 drops of *Substrate* (white-capped bottle) to the ***Reaction Window***. Read and record results visually after 10 minutes.

INTERPRETATION OF RESULTS

1. Interpretation of the test is most reliable when the device is read immediately at the end of the 10 minute reaction period. Read the device at a normal working distance in a well-lit area. View with a line of vision directly over the device.
2. Observe device for the appearance of blue dots in the middle of the *Reaction Window* representing the internal positive control. The appearance of any control dot(s) represents a valid internal control. The background may appear white to light blue in color. Observe device for the appearance of blue lines on the "Ag" and "Tox" sides of the *Reaction Window* representing the test lines. The lines may appear faint to dark in intensity.
3. **Positive Antigen ("Ag") Result:** A positive antigen result may be interpreted at any time between the addition of *Substrate* and the 10-minute read time. For a positive antigen result, the blue "Ag" line and the dotted blue control line below "C" are visible (Figure 1a). The lines may appear faint to dark in intensity. An obvious partial line is interpreted as a positive result. Do not interpret membrane discoloration as a positive result. A positive result indicates the presence of *C. difficile*.
4. **Positive Antigen and Toxin ("Tox") Result:** If the antigen result is positive (i.e., a blue "Ag" line and a dotted blue control below "C" are visible), proceed to the interpretation of the toxin result. A positive toxin result may be interpreted at any time between the addition of *Substrate* and the 10-minute read time. For a positive toxin result, a blue "Tox" line is visible (Figure 1b). The line may appear faint to dark in intensity. An obvious partial line is interpreted as a positive result. Do not interpret membrane discoloration as a positive result. A positive result indicates the presence of *C. difficile* toxin.
5. **Negative Result:** A test cannot be interpreted as negative or invalid until 10 minutes following the addition of *Substrate*. A single blue dotted line is visible in the middle of the *Reaction Window,* below the "C" and no test lines are visible on the "Ag" side or the "Tox" side of the *Reaction Window,* (Figure 1c). A negative result in the antigen portion indicates *C. difficile* antigen is either absent in the specimen or is below the detection limit of the test. A negative result in the toxin portion indicates C. difficile toxin is either absent in the specimen or is below the detection limit of the test.
6. **Invalid Result:** No lines are visible in the Reaction Window (Figure 1d). The test result is invalid if a blue dotted line is not present below the "C" at the completion of the reaction period (Figures 1e, 1f, 1g).
7. **Negative Antigen ("Ag"), Positive Toxin ("Tox"):** A low percentage of specimens may test negative for antigen but positive for toxin. These samples should be considered indeterminate and retested using a fresh specimen (Figure 1h). If sample retests negative for antigen but positive for toxin, report as positive toxin result.

For Instructional Use Only

FIGURE 1: *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® INTERPRETATION OF RESULTS

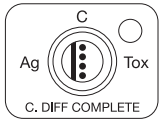


Figure 1a
Positive Antigen Result

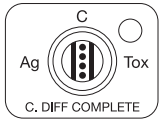


Figure 1b
Positive Antigen and Toxin Result

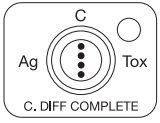


Figure 1c
Negative Result

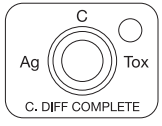


Figure 1d
Invalid Result

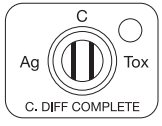


Figure 1e
Invalid Result

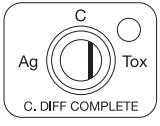


Figure 1f
Invalid Result

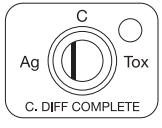


Figure 1g
Invalid Result

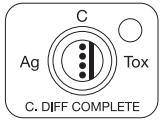


Figure 1h
See #7 for Interpretation

QUALITY CONTROL

Internal: A dotted blue line must be visible in the middle of the *Reaction Window*, below the "C" on every *Membrane Device* that is tested. The appearance of the blue control dots confirms that the sample and reagents were added correctly, that the reagents were active at the time of performing the assay, and that the sample migrated properly through the *Membrane Device*. It also confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay. A uniform background in the result area is considered an internal negative control. If the test has been performed correctly and reagents are working properly, the background will be white to give a discernible result.

External: The reactivity of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® kit should be verified upon receipt using the *Positive Control* and negative control (*Diluent*). The *Positive Control* is supplied with the kit (gray-capped bottle). The *Positive Control* confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay, and is not intended to ensure precision at the analytical assay cut-off. *Diluent* is used for the negative control. Additional tests can be performed with the controls to meet the requirements of local, state and/or federal regulations and/or accrediting organizations.

LIMITATIONS

1. The *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test is used to detect C. difficile antigen and toxin(s) in fecal specimens. The test confirms the presence of toxin in feces and this information should be taken under consideration by the physician in light of the clinical history and physical examination of the patient. The *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test will detect levels of toxin A at ≥0.63 ng/mL, toxin B at ≥0.16 ng/mL, and glutamate dehydrogenase at ≥0.8 ng/mL.
2. Fecal specimens are extremely complex. Optimal results with the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test are obtained with specimens that are less than 24 hours old. Most undiluted specimens can be stored between 2°C and 8°C for 72 hours before significant degradation of the toxin is noted. If specimens are not assayed within this time period, they may be frozen and thawed. However, repeated freezing and thawing may result in loss in the immunoreactivity of antigen and toxins A and B.
3. Some specimens may give weak reactions. This may be due to a number of factors such as the presence of low levels of antigen and/or toxin, the presence of binding substances, or inactivating enzymes in the feces. The lines may appear faint to dark in intensity. These specimens should be reported as positive if any blue line, even a partial line is observed. An obvious partial blue line is interpreted as a positive result.
4. Fecal specimens preserved in 10% Formalin, merthiolate formalin, sodium acetate formalin, or polyvinyl alcohol cannot be used.
5. The *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test is qualitative. The intensity of the color should not be interpreted quantitatively.
6. Some isolates of *C. sordellii* may react in the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test due to the production of immunologically related toxins (1).
7. Colonization rates of up to 50% have been reported in infants. A high rate has also been reported in cystic fibrosis patients (1,3). Results may appear positive in these groups, but should be viewed in conjunction with the potential to be a colonized carrier.
8. The only non-*C. difficile* organism to react in the toxin portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test was *Clostridium sordellii* VPI 9048. This strain produces toxins HT and LT, which are homologous to toxins A and B, respectively.
9. No data exists on the effects of colonic washes, barium enemas, laxatives, or bowel preparations on the performance of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test. All of these procedures can result in extensive dilution or the presence of additives that may affect test performance.

EXPECTED VALUES

Clostridium difficile disease is primarily a nosocomial disease of elderly patients, and the frequency of the disease is dependent on factors such as patient population, type of institution and epidemiology. The reported incidence of *C. difficile* disease in patients with antibiotic-associated diarrhea may range from 5 to 20%, and hospitals may experience rates lower or higher than this range. It is important to consider any test results in conjunction with clinical symptoms because some healthy adults and large numbers of healthy infants (up to 50%) will be positive for *C. difficile* toxin. In addition, *C. difficile* carriage rates of 22% to 32% have been reported in cystic fibrosis patients (1,3). In the studies conducted for this device, using symptomatic patients, the incidence of toxins A and B was 12% and GDH was 18%. A positive result in the antigen portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test confirms the presence of *C. difficile* in a fecal specimen; a negative result indicates the absence of the organism. A positive result in the toxin portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® confirms the presence of *C. difficile* toxin in a fecal specimen; a negative result indicates the absence of toxin or insufficient levels of toxin for detection.

For Instructional Use Only

EN

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical evaluation of the antigen portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test

The antigen portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test was compared to bacterial culture. Specimens included in the evaluation were submitted to the clinical laboratories for routine testing. The bacterial culture test was performed according to in-house procedures. The results are shown in Table 1.

Table 1. Summary of clinical performance comparing *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test to bacterial culture

n = 1126	Bacterial Culture Positive	Bacterial Culture Negative
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigen Line Positive	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigen Line Negative	21	842

		95% Confidence Limits
Sensitivity	90.5%	85.7 – 93.9
Specificity	93.1%	91.2 – 94.7
Predictive Positive Value	76.4%	70.7 – 81.3
Predictive Negative Value	97.6%	96.2 – 98.4
Correlation	92.6%	91.8 – 93.4

Discrepant samples were evaluated using current ELISA tests for *C. difficile* glutamate dehydrogenase.
Twenty-nine of the 62 false positive samples were positive by another GDH test, and were considered true positives.
Thirteen of the 21 false negative samples were negative by another GDH test, and were considered true negatives.

The antigen portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test was compared to the tissue culture assay for the detection of C. difficile toxin. Specimens included in the evaluation were submitted to the clinical laboratories for routine testing. The results are shown in Table 2. The antigen portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test detected 98,7% of the tissue culture-positive samples.

Table 2. Summary of clinical performance comparing *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test to the tissue culture assay

n = 1126	Tissue Culture Positive	Tissue Culture Negative
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigen Line Positive	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigen Line Negative	2	861

Clinical evaluation of the toxin portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test

The toxin portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test was compared to the tissue culture assay at two clinical laboratories and in-house at TECHLAB, Inc. Specimens included in the evaluation were submitted to the clinical laboratories for routine testing. The results are shown in Table 3.

Table 3. Summary of clinical performance comparing *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test to tissue culture assay

n = 1126	Tissue Culture Positive	Tissue Culture Negative
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxin Line Positive	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxin Line Negative	19	964

		95% Confidence Limits
Sensitivity	87.8%	81.4 - 92.3
Specificity	99.4%	98.6 - 99.7
Predictive Positive Value	95.8%	90.7 - 98.3
Predictive Negative Value	98.1%	96.9 - 98.8
Correlation	97.8%	97.6 - 98.0

Discrepant samples were evaluated using current ELISA tests for toxins A and B.
Five of the 6 false positive samples were positive by ELISA and were considered true positives.
Twelve of the 19 false negative samples were negative by ELISA and were considered true negatives.

For Instructional Use Only

EFFECT OF FECAL SPECIMEN CONSISTENCY

Effect of fecal specimen consistency on the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test

The reaction of fecal specimens of varying consistencies in the antigen portion (n=978) and toxin portion (n=981) of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test is shown in Tables 4 and 5. The percentages of positive reactions using either culture assay or the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test were similar in all three types of fecal specimens (liquid, semi-solid, and solid). All of the specimens were submitted for C. difficile testing. The basis of the submission was the clinical history of the patient and not the consistency of the specimen. In the antigen portion, the results show that the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test performed similarly to bacterial culture when testing samples of different consistencies. In the toxin portion, the results show the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test performed similarly to the tissue culture assay when testing samples of different consistencies.

Table 4. Reaction of fecal specimens of varying consistencies in the antigen portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test

Number of specimens (n = 978)	Liquid Specimens (n = 335)	Semi-solid Specimens (n = 522)	Solid Specimens (n = 121)
Positive by bacterial culture assay	59 (17.6%)	110 (21.1%)	19 (15.7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigen Line Positive	72 (21.5%)	128 (24.5%)	25 (20.7%)
Negative by bacterial culture assay	276 (82.4%)	412 (78.9%)	102 (84.3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigen Line Negative	263 (78.5%)	394 (75.5%)	96 (79.3%)

Table 5. Reaction of fecal specimens of varying consistencies in the toxin portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test

Number of specimens (n = 981)	Liquid Specimens (n = 336)	Semi-solid Specimens (n = 523)	Solid Specimens (n = 122)
Positive by tissue culture assay	43 (12.8%)	81 (15.5%)	8 (6.6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxin Line Positive	42 (12.5%)	72 (13.8%)	7 (5.7%)
Negative by tissue culture assay	293 (87.2%)	442 (84.5%)	114 (93.4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxin Line Negative	294 (87.5%)	451 (86.2%)	115 (94.3%)

ANALYTICAL SENSITIVITY

The cutoff for the assay was established at concentrations of 0.63 ng/mL for toxin A, 0.16 ng/mL for toxin B, and 0.8 ng/mL for glutamate dehydrogenase.

REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test was determined using 12 fecal specimens that were coded to prevent their identification during testing. Testing was performed at 3 independent laboratories, which tested the samples for 3 days. The samples produced the expected results 100% of the time.

CROSS REACTIVITY

Fecal specimens inoculated with the following microorganisms to a final concentration of approximately 10^8 or higher organisms per mL did not react in the antigen or toxin portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test:

Bacterium or Pathogen: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (nontoxigenic)*, Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC*, Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7*, Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia ligulfaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans)*, Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

The only non-*C. difficile* organism to react in the toxin portion of the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test was *Clostridium sordellii* VPI 9048. This strain produces toxins HT and LT, which are homologous to toxins A and B, respectively.

The following viruses of $10^{3.3}$ to $10^{8.25}$ TCID units per 0.2 mL did not react in the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test:

Viruses: Adenovirus types 1, 2, 3, 5, 40, 41, Human coronavirus, Coxsackievirus B2, B3, B4, B5, Echovirus 9, 11, 18, 22, 33, Enterovirus type 68, 69, 70, 71, Rotavirus.

INTERFERING SUBSTANCES

The following substances (U.S. formulation) had no effect on test results when present in feces in the concentrations indicated: mucin (3.5% w/v), human blood (40% v/v), barium sulfate (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), steric/palmitic acid (40% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Vancomycin (0.25% w/v).

REACTION OF CLINICAL ISOLATES OBTAINED ON CYCLOSERINE-CEFOXITIN-FRUCTOSE AGAR (CCFA)

A total of 103 *C. difficile* clinical isolates, obtained by anaerobic bacterial culture on CCFA after 3 days at 37°C, were tested in the *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® test. For the analysis, individual colonies were picked and suspended in *Diluent* as recommended for fecal specimens. All 103 isolates gave a positive antigen reaction in the test.

Seventy of the 103 isolates (68%) were from fecal specimens that were positive for *C. difficile* toxin by tissue culture assay. Of these, 56 (80%) gave a positive toxin reaction when screened following anaerobic growth on CCFA for 3 days at 37°C.

For Instruction Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

USO PREVISTO

El test TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* es un enzimoinmunoensayo rápido de membrana para la detección simultánea del antígeno glutamato deshidrogenasa de *Clostridium difficile* y de toxinas A y B en un mismo pocillo de reacción. El test detecta el antígeno de *C. difficile*, la glutamato deshidrogenasa, como criba para detectar la presencia de *C. difficile* y confirma la presencia de *C. difficile* toxigénica a través de la detección de las toxinas A y B en muestras fecales de personas sospechosas de padecer una enfermedad causada por *C. difficile*. El test debe utilizarse como ayuda para el diagnóstico de la enfermedad causada por *C. difficile*. Como ocurre con otros tests para *C. difficile*, los resultados deben evaluarse siempre junto con los antecedentes del paciente.

FUNDAMENTO

Después del tratamiento con antibióticos, muchos pacientes sufren problemas gastrointestinales que varían entre la diarrea leve y la colitis pseudomembranosa grave. Gran parte de los casos más leves de enfermedad gastrointestinal y la mayoría de los casos de colitis pseudomembranosa están causados por cepas toxigénicas de *Clostridium difficile* (1). Este microorganismo es una bacteria anaerobia oportunista que crece en el intestino cuando la flora normal es alterada por un antibiótico. Las cepas toxigénicas de *C. difficile* son portadoras de los genes que codifican las toxinas mientras que las cepas no toxigénicas no contienen estos genes de toxinas. La aparición de la enfermedad está asociada a las toxinas producidas por el microorganismo toxigénico. Se cree que los síntomas clínicos asociados a la enfermedad están causados principalmente por la toxina A, una enterotoxina que lesiona los tejidos (2,3). *C. difficile* también produce una segunda toxina, denominada toxina B. La toxina B, mencionada como la citotoxina del microorganismo, se detecta mediante los análisis de cultivos tisulares que se utilizan actualmente en numerosos laboratorios. Las cepas toxigénicas de *C. difficile* producen ambas toxinas o sólo la toxina B (4-7). La glutamato deshidrogenasa de *C. difficile* es un buen marcador antigénico del microorganismo en las heces, porque lo producen en grandes cantidades tanto las cepas toxigénicas como las no toxigénicas (8-10). El antígeno puede detectarse en las muestras fecales con el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Un resultado positivo del test para la glutamato deshidrogenasa de *C. difficile* confirma la presencia de este microorganismo en una muestra fecal, mientras que un resultado negativo indica la ausencia del microorganismo. A su vez, un resultado positivo en el ensayo para las toxinas A y B confirma la presencia de *C. difficile* toxigénica.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* utiliza anticuerpos específicos frente a la glutamato deshidrogenasa y las toxinas A y B de *C. difficile*. El dispositivo contiene una ventana de reacción con tres líneas verticales con anticuerpos inmovilizados. La línea de antígeno ("Ag") del test contiene anticuerpos frente a la glutamato deshidrogenasa de *C. difficile*. La línea de control ("C") es una línea de puntos que contiene anticuerpos anti-peroxidasa de rábano picante (HRP). La línea de toxinas A y B ("Tox") del test contiene anticuerpos frente a las toxinas A y B de *C. difficile*. El *conjugado* consiste en anticuerpos frente a la glutamato deshidrogenasa y anticuerpos frente a las toxinas A y B unidos a la peroxidasa de rábano. Para realizar el test, la muestra se añade a un tubo que contiene una mezcla de *diluyente* y *conjugado*. La mezcla muestra-conjugado diluida se añade al *pocillo de muestra* y el dispositivo se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante la incubación, cualquier cantidad de glutamato deshidrogenasa y de toxinas A y B presente en la muestra se une a los conjugados anticuerpo-peroxidasa. Los complejos antígeno-anticuerpo-conjugado migran a través de un filtro almohadillado a una membrana donde los captan los anticuerpos específicos de la glutamato deshidrogenasa y las toxinas A y B inmovilizados en las líneas. A continuación, se lava la *ventana de reacción* con *tampón de lavado*, seguido por la adición de *sustrato*. Tras una incubación de 10 minutos, se comprueba visualmente en la reacción "Ag" la aparición de una línea azul vertical en el lado "Ag" de la *ventana de reacción*. La presencia de una línea azul indica un resultado positivo. Si el "Ag" es positivo, entonces debe comprobarse visualmente en la reacción "Tox" si aparece una línea azul en el lado "Tox" de la *ventana de reacción*. La presencia de una línea azul indica un resultado positivo. Una reacción positiva "C", indicada por una línea azul de puntos vertical bajo la parte "C" de la *ventana de reacción* confirma que el test funciona adecuadamente y que los resultados son válidos.

MATERIALES SUMINISTRADOS

MEM | DEV — ***Dispositivos de membrana*** – cada bolsa contiene 1 dispositivo

DIL | SPE — ***Diluyente* (22 ml por frasco)** – Solución tamponada proteínica con cuentagotas graduado (contiene ProClin® 300 al 0,05%)*

WASH | REAG — ***Tampón de lavado* (12 ml por frasco)** – Solución tamponada con cuentagotas graduado (contiene ProClin® 300 al 0,05%)*

SUBS | REAG — ***Sustrato* (3,5 ml por frasco)** – Solución con tetrametilbenzidina

CONJ | ENZ — ***Conjugado* (2,5 ml por frasco)** – Anticuerpo específico para la glutamato deshidrogenasa unido a peroxidasa de rábano picante y anticuerpos específicos para las toxinas A y B unidos a peroxidasa de rábano picante en una solución tamponada proteínica (contiene ProClin® 300 al 0,05 %)*

CONTROL | + — ***Control positivo* (2 ml)** – Antígeno en una solución tamponada proteínica

Pipetas de plástico desechables – graduadas a 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl y 500 µl

IVD — Para uso diagnóstico *in vitro*

*Palabra de advertencia: Advertencia
H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Tubos de ensayo pequeños (p. ej., tubos de plástico de microcentrífuga o tubos de vidrio)
Varillas aplicadoras *Cronómetro* *Mezclador de tipo vórtex*
Guantes desechables para manipular las muestras fecales *Pipeta y puntas de pipeta*

PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta. Las fechas de caducidad de los componentes se indican en sus correspondientes etiquetas. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional.
2. No deben mezclarse ni intercambiarse reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
3. Cada componente del kit debe inspeccionarse por cualquier posible signo de fugas. A su recepción, se inspeccionará el kit para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
4. ANTES DEL USO, deje que todos los componentes alcancen la TEMPERATURA AMBIENTE.

Professional Use Only

5. Los tapones, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse.
6. No congele los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.
7. La bolsa que contiene el *dispositivo de membrana* debe estar a temperatura ambiente antes de abrirse. Mantenga secos los dispositivos de membrana antes de su uso.
8. Para obtener unos resultados óptimos las muestras fecales deben analizarse en un plazo no superior a 72 horas desde su recogida. Las muestras congeladas pueden perder su actividad como consecuencia de los procesos de congelación y descongelación. Si se utilizan muestras congeladas, descongele a temperatura ambiente.
9. Cuando añada los reactivos, sujete los frascos de los reactivos en posición vertical con el fin de asegurar que el tamaño de las gotas sea consistente y que el volumen sea correcto.
10. Las muestras y los dispositivos de membrana deben manipularse y eliminarse después del uso como materiales biológicos potencialmente peligrosos.
11. Los dispositivos de membrana no pueden volver a utilizarse.
12. La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. Las alteraciones del procedimiento especificado y/o de las condiciones de la prueba pueden afectar a su sensibilidad y especificidad. No se desvíe del procedimiento especificado.
13. Preste atención al tiempo total del análisis cuando realice la prueba con más de una muestra fecal. Añada primero el *diluyente* y a continuación añada el *conjugado* a cada tubo de *diluyente*. Después añada la muestra al tubo de *diluyente/conjugado*. Mezcle bien todas las muestras diluidas y, a continuación, transfiéralas al *dispositivo de membrana*. El paso de incubación de 15 minutos comienza después de que se haya transferido la última mezcla de muestra-conjugado diluida al *Dispositivo de membrana* final.
14. Si el reactivo del *sustrato* adquiere un color azul oscuro/violeta, avise al Servicio técnico para su sustitución.
15. Las muestras fecales pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manejarse en un “Nivel de Bioseguridad 2”, tal como se recomienda en el Manual de los CDC/NIH, “Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos”.
16. Utilice guantes desechables para realizar la prueba.
17. Los reactivos *conjugado, diluyente* y *tampón de lavado* contienen ProClin® 300 al 0,05 % como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo (puede producirse sensibilización cutánea). En caso de irritación/sensibilización o erupción cutánea, consulte a un médico. Quítese las prendas contaminadas y lávelas antes de volver a usarlas. Manipule los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido; consulte al servicio técnico.
18. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS FECALES

Tipos de muestra aceptables	No utilizar
Muestras fecales recientes	Muestras fecales con fijación basada en formol (p. ej., formol acetato sódico, formol al 10%, formol mertiolato)
Muestras fecales congeladas	Muestras fecales en fijación basada en alcohol (p. ej., alcohol polivinílico)
Muestras en medios de transporte (Cary Blair, C&S)	

Almacenamiento de la muestra Temperatura	Duración aceptable del almacenamiento	Comentarios
2 °C – 8 °C	72 horas	Las muestras perfectas tienen menos de 24 horas
Congelado a ≤ -10°C	Más de 72 horas	Descongelar a temperatura ambiente. La realización de múltiples ciclos de congelación y descongelación puede provocar la pérdida de actividad de la muestra debida a la degradación de la toxina.

1. Los procedimientos internos estándar de recogida y manipulación de las muestras fecales son adecuados.
2. Las muestras fecales deben recogerse en recipientes limpios, a prueba de fugas.
3. NO se recomienda conservar las muestras fecales en el *Diluyente*.
4. No permita que las muestras fecales permanezcan en la mezcla de *diluyente/conjugado* durante más de 24 horas.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

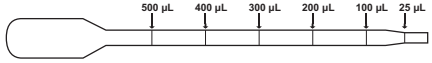
1. Espere hasta que todos los reactivos y el número de dispositivos que sean necesarios se encuentren a temperatura ambiente antes de su uso. Se recomienda retirar los reactivos de la tira de espuma para reducir el tiempo necesario para calentarlos a temperatura ambiente.
2. Asigne e identifique un tubo de ensayo pequeño para cada muestra así como controles externos opcionales según sea necesario.
3. Añada 750 µl de *diluyente* (2° graduación desde la punta) a cada tubo de muestras fecales utilizando el cuentagotas graduado negro. **En el caso de muestras en medios de transporte como Cary Blair o C&S, añada 650 µl (1° graduación desde la punta) de *diluyente* al tubo.**

Tipo de muestra	Volumen de *diluyente*
Muestras fecales recientes	750 µl (2° graduación desde la punta)
Muestras fecales congeladas (congeladas sin diluir)	750 µl (2° graduación desde la punta)
Muestras en medios de transporte (Cary Blair, C&S)	650 µl (1° graduación desde la punta)
Controles externos (positivos y negativos)	750 µl (2° graduación desde la punta)



4. Añada una gota de *conjugado* (frasco con tapón rojo) a cada tubo.
5. Utilice una pipeta de plástico desechable (suministrada con el kit) para cada muestra – las pipetas tienen graduaciones a 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl y 500 µl.

Pipeta graduada:



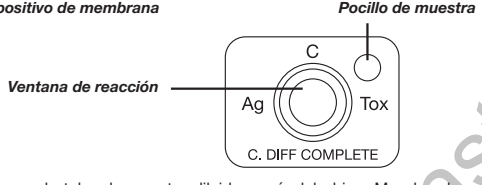
For Institutional Use Only

6. **Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea de las muestras antes de transferirlas.**
   Muestras líquidas/semisólidas – Pipetee 25 µl de muestra con una pipeta (aquí hemos borrado el paréntesis) y añádala a la mezcla de *diluyente/conjugado*. Utilice la misma pipeta para mezclar la muestra diluida.
   Muestras formadas/sólidas – Es preciso tener cuidado para añadir el volumen correcto de heces formadas a la mezcla de muestra. Mezcle bien la muestra con una varilla aplicadora de madera y transfiera una parte pequeña (aproximadamente de 2 mm de diámetro, el equivalente de 25 µl) de la muestra a la mezcla de diluyente/conjugado. Emulsione la muestra con la varilla aplicadora.
   Muestras fecales en medios de transporte Cary Blair o C&S - Pipetee 100 µl (2ª graduación desde la punta de la pipeta) de muestra a la mezcla de *diluyente/conjugado*.
7. **Muestras opcionales de control externo:**
   Control positivo externo - Añada una gota de *control positivo* (frasco con tapón gris) a la mezcla de *diluyente/conjugado*.
   Control negativo externo - Añada 25 µL de *diluyente* a la mezcla de *diluyente/conjugado*.

NOTA: Si se transfiere una cantidad muy reducida de muestra o si no se mezcla y se suspende completamente la muestra en la mezcla de diluyente/conjugado puede obtenerse un resultado falso negativo en la prueba. Si se añade una cantidad excesiva de heces, pueden obtenerse resultados no válidos debido al reducido flujo de la muestra.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

1. Obtenga un *dispositivo de membrana* por muestra y un dispositivo para el control positivo o negativo externo opcional, según sea necesario. Las bolsas de papel de aluminio que contienen los dispositivos deben estar a temperatura ambiente antes de proceder a su apertura. Utilice el dispositivo inmediatamente después de abrir. Identifique los dispositivos de forma apropiada y oriéntelos en una superficie plana de forma que la inscripción "C. DIFF COMPLETE" del dispositivo se encuentre en el fondo del mismo y el pocillo de muestra pequeño se encuentre en la esquina superior derecha del dispositivo.



2. Cierre cada tubo de muestra diluida y mézclelo bien. Mezcle adecuadamente con vórtex o invirtiendo el tubo. Una vez diluida la muestra de paciente o el *control positivo* en la mezcla de *diluyente/conjugado*, esta puede incubarse a temperatura ambiente durante cualquier período de tiempo hasta 24 horas antes de la adición al *dispositivo de membrana*.
3. Utilice una nueva pipeta, transfiera 500 µl de la mezcla de muestra-conjugado diluida al ***pocillo de muestra*** (orificio más pequeño en la esquina superior derecha del dispositivo) de un *dispositivo de membrana* y asegúrese de que expulsa la muestra líquida en la almohadilla de absorción del interior del *dispositivo de membrana*. Cuando cargue la muestra en el pocillo, compruebe que la punta de la pipeta está angulada hacia la *ventana de reacción* (orificio mayor en el centro del dispositivo).
4. Incube el dispositivo a temperatura ambiente durante 15 minutos – la muestra se absorberá a través del dispositivo y el área húmeda se extenderá en la *ventana de reacción*.

NOTA PARA LAS MUESTRAS QUE NO MIGRAN:
Ocasionalmente, una muestra diluida no migra adecuadamente y la ventana de reacción no se humedece completamente. Si la ventana de reacción no aparece completamente húmeda en el plazo de 5 minutos después de añadir la muestra al pocillo, añada 100 µl (4 gotas) de diluyente al pocillo y espere otros 5 minutos (para un total de 20 minutos).

5. Después de la incubación, añada 300 µl de *solución de tampón de lavado* a la ***ventana de reacción*** utilizando el cuentagotas blanco graduado. Deje que la *solución de lavado* penetre en la membrana de la ventana de reacción y se absorba completamente.
6. Añada 2 gotas de *sustrato* (frasco con tapón blanco) a la ***ventana de reacción***. Lea y anote los resultados observados después de 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. La interpretación del test es más fiable cuando se lee el dispositivo inmediatamente después del periodo de reacción de 10 minutos. Lea el dispositivo a una distancia normal en una zona bien iluminada. Dirija la mirada a la línea de visión situada directamente sobre el dispositivo.
2. Observe la aparición de puntos azules en el centro de la *ventana de reacción* que representa el control positivo interno. La presencia de cualquier punto de control representa un control interno válido. El fondo puede mostrarse de color blanco a azul claro. Observe la aparición en el dispositivo de líneas azules en los lados "Ag" y Tox" de la *ventana de reacción* que representan las líneas de test. El color de las líneas puede ser débil o intenso.
3. **Resultado positivo de antígeno ("Ag"):** Un resultado positivo de antígeno puede interpretarse en cualquier momento entre la adición del *sustrato* y el tiempo de lectura de 10 minutos. Para que un resultado de antígeno sea positivo deben ser visibles la línea azul "Ag" y la línea de control de puntos azules debajo de "C" (Figura 1a). El color de las líneas puede ser débil o intenso. Una línea parcialmente visible se interpreta como un resultado positivo. No interprete la decoloración de la membrana como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia de *C. difficile*.
4. **Resultado positivo de antígeno y toxina ("Tox"):** Si el resultado de antígeno es positivo (es decir, están visibles la línea azul "Ag" y la línea de control de puntos azules debajo de "C"), pase a interpretar el resultado de la toxina. Un resultado positivo para la toxina puede interpretarse en cualquier momento entre la adición del *sustrato* y el tiempo de lectura de 10 minutos. En caso de resultado positivo de toxina resulta visible una línea azul "Tox" (Figura 1b). La línea puede tener una intensidad débil o intensa. Una línea parcialmente visible se interpreta como un resultado positivo. No interprete la decoloración de la membrana como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia de las toxinas de *C. difficile*.
5. **Resultado negativo:** Un test no puede interpretarse como negativo o no válido hasta 10 minutos después de la adición del *sustrato*. Se observa una única línea azul de puntos en el centro de la *ventana de reacción*, debajo de "C" y no hay líneas de test visibles en el lado "Ag" o en el lado "Tox" de la *ventana de reacción* (Figura 1d). Un resultado negativo en la parte de antígeno indica que el antígeno de *C. difficile* está ausente en la muestra o está por debajo del límite de detección del test. Un resultado negativo en la parte de toxina indica que la toxina de C. difficile está ausente en la muestra o está por debajo del límite de detección del test.
6. **Resultado no válido:** No hay líneas visibles en la ventana de reacción (Figura 1d). El resultado del test no es válido si no se encuentra presente una línea de de puntos azules debajo de "C" al terminar el período de reacción (Figuras 1e, 1f, 1g).
7. **Antígeno ("Ag") negativo, toxina ("Tox") positiva:** Un reducido porcentaje de muestras pueden dar resultado negativo para el antígeno pero positivo para la toxina. Estas muestras deberán ser consideradas como indeterminadas y analizadas de nuevo utilizando una muestra fresca (Figura 1h). Si el nuevo análisis da negativo para antígeno pero positivo para toxina, clasifíquelo como un resultado positivo para toxina.

For instructional use only

FIGURA 1: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

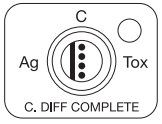


Figura 1a
Resultado positivo de antígeno

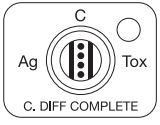


Figura 1b
Resultado positivo de antígeno y toxina

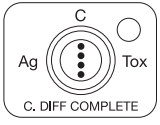


Figura 1c
Resultado negativo

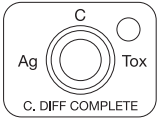


Figura 1d
Resultado no válido

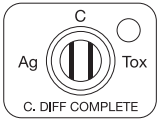


Figura 1e
Resultado no válido

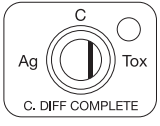


Figura 1f
Resultado no válido

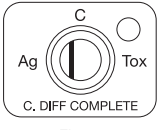


Figura 1g
Resultado no válido

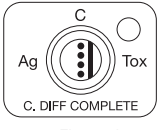


Figura 1h
Ver el punto 7 para la interpretación

CONTROL DE CALIDAD

Interno: Debe observarse una línea azul de puntos en el centro de la *ventana de reacción*, debajo de "C" en cada *dispositivo de membrana* que se estudie. La aparición de los puntos azules de control confirma que se han añadido correctamente la muestra y los reactivos, que los reactivos estaban activos durante la realización del análisis y que la mezcla ha migrado adecuadamente a través del *dispositivo de membrana*. Confirma también la reactividad de los otros reactivos asociados al ensayo. Un fondo uniforme en el área de resultados se considera como un control negativo interno. Si el test se ha realizado adecuadamente y los reactivos funcionan correctamente, el fondo será blanco para dar un resultado apreciable.

Externo: La reactividad del kit *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* debe comprobarse al recibir el kit usando el *Control positivo* y el control negativo (*Diluyente*). El *control positivo* se suministra con el kit (frasco con tapón gris). El *control positivo* se utiliza para verificar la reactividad de los demás reactivos del ensayo y su objetivo no es asegurar la precisión del punto de corte del ensayo. El *Diluyente* se utiliza para el control negativo. Pueden realizarse tests adicionales con los controles para cumplir los requisitos administrativos locales, regionales o federales y los de los organismos de acreditación.

LIMITACIONES

1. El test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se utiliza para detectar el antígeno y la(s) toxina(s) de C. difficile en muestras fecales. El test confirma la presencia de toxinas en heces y esta información deberá ser analizada por el médico junto con la anamnesis y la exploración física del paciente. El test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* detecta niveles de la toxina A a ≥0,63 ng/ml, de la toxina B a ≥0,16 ng/ml y de la glutamato deshidrogenasa a ≥0,8 ng/ml.
2. Las muestras fecales son muy complejas. Los resultados óptimos en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se obtienen con muestras recogidas en las 24 horas previas. La mayoría de las muestras no diluidas pueden conservarse entre 2 y 8 °C durante 72 horas antes de que se produzca una degradación significativa de las toxinas. Si las muestras no se pueden analizar en este plazo de tiempo, se pueden congelar y posteriormente descongelar. Sin embargo, si las muestras se congelan y descongelan varias veces, puede perderse la inmunorreactividad del antígeno y de las toxinas A y B.
3. En algunas muestras pueden obtenerse reacciones débilmente positivas. Esto puede deberse a diversos factores como la presencia de niveles bajos de antígeno y/o toxina o a la presencia de sustancias fijadoras o enzimas inactivadoras en las heces. El color de las líneas puede ser débil o intenso. Estas muestras se deben clasificar como positivas si se ve una línea azul, incluso si es parcialmente visible. Una línea azul parcialmente visible se interpreta como un resultado positivo
4. No pueden utilizarse muestras fecales conservadas en formol al 10%, formol-mertiolato, formol-acetato sódico o alcohol polivinílico.
5. El test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* es un test cualitativo. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
6. Algunos aislamientos de *C. sordellii* pueden reaccionar en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* debido a la producción de toxinas inmunológicamente relacionadas (1).
7. En niños se han descrito índices de colonización de hasta el 50%. Se ha descrito también un elevado índice de colonización en pacientes con fibrosis quística (1,3). En estos grupos, los resultados pueden parecer positivos aunque deben evaluarse teniendo en cuenta la posibilidad de que sean portadores colonizados.
8. El único microorganismo no de *C. difficile* que reaccionó en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* fue *Clostridium sordellii* VPI 9048. Esta cepa produce las toxinas HT y LT que son homólogas a la toxina A y la toxina B, respectivamente.
9. No existen datos sobre los efectos de los lavados de colon, enemas de bario, laxantes o preparados para colonoscopia en el rendimiento del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Todos estos procedimientos pueden causar una amplia dilución o la presencia de aditivos que pueden afectar al rendimiento del test.

VALORES ESPERADOS

La enfermedad por *Clostridium difficile* es sobre todo una enfermedad nosocomial que afecta a pacientes de edad avanzada y su frecuencia depende de factores como el tipo de paciente, el tipo de institución y factores epidemiológicos. La incidencia de la enfermedad por *C.difficile* en pacientes con diarrea asociada al uso de antibióticos puede variar entre el 5 y 20% y algunos hospitales pueden presentar tasas superiores o inferiores a este intervalo. Es importante interpretar cualquier resultado junto con los síntomas clínicos, porque en algunos adultos sanos y un gran número de niños sanos (hasta el 50%) se obtienen resultados positivos para la toxina de *C. difficile*. Además, en pacientes con fibrosis quística se han descrito índices de portadores de *C. difficile* de entre el 22% y el 32% (1,3). En los estudios realizados para este dispositivo con pacientes sintomáticos la incidencia de toxinas A y B fue del 12% y la de GDH del 18%. Un resultado positivo en la parte de antígeno con el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* confirma la presencia de *C. difficile* en una muestra fecal, mientras que un resultado negativo indica la ausencia del microorganismo. Un resultado positivo en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* confirma la presencia de la toxina de *C. difficile* en una muestra fecal, mientras que un resultado negativo indica la ausencia de la toxina o unos niveles de toxina insuficientes para su detección.

For instructional use only

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Evaluación clínica de la parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Se comparó la parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con un cultivo bacteriano. Las muestras incluidas en la valoración fueron enviadas a laboratorios clínicos para los análisis de rutina. El test del cultivo bacteriano se realizó de acuerdo con los procedimientos internos. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen del rendimiento clínico en la comparación del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el cultivo bacteriano

n = 1126	Cultivo bacteriano Positivo	Cultivo bacteriano Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno positiva	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno negativa	21	842

		Límites de confianza del 95 %
Sensibilidad	90,5%	85,7 – 93,9
Especificidad	93,1%	91,2 – 94,7
Valor predictivo positivo	76,4%	70,7 – 81,3
Valor predictivo negativo	97,6%	96,2 – 98,4
Correlación	92,6%	91,8 – 93,4

Las muestras discrepantes fueron evaluadas utilizando ensayos ELISA actuales para la glutamato deshidrogenasa de *C. difficile*.
Veintinueve de las 62 muestras falso positivas dieron positivas con otra prueba GDH y se consideraron como verdaderas positivas.
Trece de las 21 muestras falso negativas dieron negativas con otra prueba GDH y se consideraron como verdaderas negativas.

Se comparó la parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el ensayo de cultivo tisular para detectar la toxina de C. difficile. Las muestras incluidas en la valoración fueron enviadas a laboratorios clínicos para los análisis de rutina. Los resultados se presentan en la Tabla 2. La parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* detectó el 98,7% de las muestras con resultado positivo en el cultivo tisular.

Tabla 2. Resumen del rendimiento clínico en la comparación del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el ensayo de cultivo tisular

n = 1126	Cultivo tisular Positivo	Cultivo tisular Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno positiva	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno negativa	2	861

Evaluación clínica de la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Se comparó la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el ensayo de cultivo tisular en dos laboratorios clínicos y en un laboratorio interno de TECHLAB, Inc. Las muestras incluidas en la evaluación se remitieron a los laboratorios clínicos para realizar los análisis rutinarios. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resumen del rendimiento clínico en la comparación del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el ensayo de cultivo tisular

n = 1126	Cultivo tisular Positivo	Cultivo tisular Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de toxina positiva	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de toxina negativa	19	964

		Límites de confianza del 95 %
Sensibilidad	87,8%	81,4 - 92,3
Especificidad	99,4%	98,6 - 99,7
Valor predictivo positivo	95,8%	90,7 - 98,3
Valor predictivo negativo	98,1%	96,9 - 98,8
Correlación	97,8%	97,6 - 98,0

Las muestras discrepantes fueron evaluadas utilizando tests ELISA actuales para toxinas A y B.
Cinco de las 6 muestras falso positivas dieron positivas con ELISA y se consideraron como verdaderas positivas.
Doce de las 19 muestras falso negativas dieron negativas con ELISA y se consideraron como verdaderas negativas.

EFECTO DE LA CONSISTENCIA DE LA MUESTRA FECAL

Efecto de la consistencia de la muestra fecal en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

En las Tablas 4 y 5 se muestra la reacción de las muestras fecales de diferentes consistencias en la parte de antígeno (n=978) y la parte de toxina (n=981) del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. El porcentaje de reacciones positivas tanto en el ensayo de cultivo como en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* fue similar en los tres tipos de muestras fecales (líquidas, semi-sólidas y sólidas). Todas las muestras se remitieron para el análisis de C. difficile en las mismas. El motivo del envío de las muestras para la realización del test era la anamnesis del paciente y no la consistencia de las heces. En la parte de antígeno, los resultados demuestran que el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* funcionó de forma similar al cultivo bacteriano cuando se analizaron muestras con consistencias diferentes. En la parte de toxina, los resultados demuestran que el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* funcionó de forma similar al ensayo de cultivo tisular cuando se analizaron muestras con consistencias diferentes.

For Instructional Use Only

Tabla 4. Reacción de muestras fecales de diferentes consistencias en la parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Número de muestras (n = 978)	Muestras líquidas (n = 335)	Muestras semisólidas (n = 522)	Muestras sólidas (n = 121)
Positivas mediante el ensayo de cultivo bacteriano	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno positiva	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Negativas mediante el ensayo de cultivo bacteriano	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno negativa	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tabla 5. Reacción de muestras fecales de diferentes consistencias en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Número de muestras (n = 981)	Muestras líquidas (n = 336)	Muestras semisólidas (n = 523)	Muestras sólidas (n = 122)
Positivas mediante el ensayo de cultivo tisular	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de toxina positiva	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Negativas mediante el ensayo de cultivo tisular	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de toxina negativa	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El corte para la valoración se estableció a concentraciones de 0,63 ng/ml para la toxina A, de 0,16 ng/ml para la toxina B y de 0,8 ng/ml para la glutamato deshidrogenasa.

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se determinó utilizando 12 muestras fecales codificadas para evitar su identificación durante los análisis. El análisis se realizó en 3 laboratorios independientes que analizaron las muestras durante 3 días. Las muestras produjeron los resultados esperados en todos los casos.

REACTIVIDAD CRUZADA

Las muestras fecales inoculadas con los microorganismos que figuran a continuación a una concentración final de aproximadamente 10^8 o superior de microorganismos/ml no reaccionaron en la parte de antígeno ni en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Bacterias o patógenos: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (nontoxigénica)*, Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC*, Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7*, Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans)*, Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

El único microorganismo no de *C. difficile* que reaccionó en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* fue *Clostridium sordellii* VPI 9048. Esta cepa produce las toxinas HT y LT que son homólogas a la toxina A y la toxina B, respectivamente.

Los siguientes virus de $10^{8.3}$ a $10^{8.25}$ unidades TCID por 0,2 ml no reaccionaron en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Virus: tipos 1, 2, 3, 5, 40 y 41 del adenovirus, coronavirus humano, virus Coxsackie B2, B3, B4, B5, virus Echo 9, 11, 18, 22, 33, tipos 68, 69, 70 y 71 del enterovirus, rotavirus.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias (formulación de EE. UU.) no influyeron en los resultados del test cuando se encontraban presentes en las heces en las concentraciones indicadas: mucina (3,5% p/v), sangre humana (40% v/v), sulfato de bario (5% p/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), ácido estérico/ácido palmítico (40% p/v), metronidazol (0,25% p/v) y vancomicina (0,25% p/v).

REACCIÓN DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS OBTENIDOS EN AGAR DE CICLOSERINA-CEFOXITINA-FRUCTOSA (CCFA)

En total se analizaron en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLET®* 103 aislamientos clínicos de *C. difficile* obtenidos mediante cultivo bacteriano anaerobio en CCFA durante 3 días a 37 °C. Para el análisis se recogieron colonias individuales que se suspendieron en *diluyente* según las recomendaciones para muestras fecales. Los 103 aislamientos dieron una reacción positiva al antígeno en el test.

Setenta de los 103 aislamientos (68%) procedían de muestras fecales que habían dado positivo para la toxina de *C. difficile* en el ensayo de cultivo tisular. De estos, 56 (80%) dieron una reacción positiva a la toxina cuando se cribaron tras el crecimiento anaerobio en CCFA durante 3 días a 37 °C.

For Instruction Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

VERWENDUNGSZWECK

Der TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Test ist ein Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den gleichzeitigen Nachweis des *Clostridium difficile*-Antigens Glutamatdehydrogenase sowie Toxin A und B in einer einzigen Reaktionsvertiefung. Der Test weist das *C. Difficile*-Antigen Glutamatdehydrogenase als Screening für das Vorhandensein von *C. difficile* nach und bestätigt das Vorhandensein von toxigenem *C. difficile* mittels Nachweis von Toxin A und B in Stuhlproben von Personen mit Verdacht auf eine *C. difficile*-assoziierte Erkrankung. Der Test dient als Hilfsmittel bei der Diagnose von *C. difficile*-assoziierten Erkrankungen. Wie auch bei anderen *C. difficile*-Tests sind die Ergebnisse gemeinsam mit der Patientenanamnese zu betrachten.

ERKLÄRUNG

Nach einer Antibiotikabehandlung treten bei vielen Patienten Magen-Darm-Beschwerden auf, die von leichtem Durchfall bis zu schwerer pseudomembranöser Kolitis reichen. Viele der leichteren Magen-Darm-Erkrankungen sowie die meisten Fälle von pseudomembranöser Kolitis werden von toxigenen *Clostridium difficile*-Stämmen verursacht (1). Dieser Organismus ist ein opportunistisches anaerobes Bakterium, das sich im Darm ansiedelt, sobald die normale Darmflora durch das Antibiotikum verändert wird. Toxigene*C. difficile*-Stämme enthalten für die Toxine codierende Gene, während nicht-toxigene Stämme keine Toxingene enthalten. Der Ausbruch der Krankheit ist mit den vom toxigenen Organismus produzierten Toxinen assoziiert. Man geht davon aus, dass die mit der Erkrankung assoziierten klinischen Symptome hauptsächlich von Toxin A verursacht werden, einem gewebeschädigenden Enterotoxin (2, 3). *C. difficile* bildet noch ein zweites Toxin, das sogenannte Toxin B. Toxin B, als Zytotoxin des Organismus bezeichnet, ist jenes Toxin, das durch den in vielen Labors eingesetzten Gewebekulturtest nachgewiesen wird. Toxigene*C. difficile* -Stämme bilden entweder beide Toxine oder nur Toxin B (4-7). Die Glutamatdehydrogenase von *C. difficile* stellt einen guten Antigenmarker für den Stuhlorganismus dar, weil sie von allen Stämmen, toxigen oder nicht-toxigen, in großen Mengen produziert wird (8-10). Das Antigen lässt sich mithilfe des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests in Stuhlproben nachweisen. Ein positives Ergebnis beim Test auf *C. difficile*-Glutamatdehydrogenase bestätigt, dass dieser Organismus in einer Stuhlprobe vorhanden ist. Ein negatives Testergebnis zeigt an, dass der Organismus nicht vorhanden ist. Ein positives Ergebnis beim Test auf Toxin A und B bestätigt das Vorhandensein toxigener *C. difficile*-Stämme.

TESTPRINZIP

Beim *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Test werden für Glutamatdehydrogenase (GLDH) und Toxin A und B spezifische *C. difficile*-Antikörper eingesetzt. Die Testkarte verfügt über ein Reaktionsfenster mit drei vertikalen Linien aus immobilisierten Antikörpern. Die Antigentestlinie („Ag“) enthält Antikörper gegen *C. difficile*-Glutamatdehydrogenase. Die Kontrolllinie („C“) ist eine gepunktete Linie, die Anti-Meerrettich-Peroxidase (MRP)-Antikörper enthält. Die Toxin A- und B-Testlinie („Tox“) enthält Antikörper gegen *C. difficile*-Toxin A und B. Das Konjugat *besteht aus Antikörpern gegen Glutamatdehydrogenase und Antikörpern gegen Toxin A und B, die an Meerrettich-Peroxidase gebunden sind. Zur Durchführung des Tests wird die Probe einem Reagenzglas mit einer Mischung aus Verdünnungspuffer* und *Konjugat* hinzugefügt. Die verdünnte Proben-Konjugat-Mischung wird in die *Probenvertiefung* gegeben und die Testkarte bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Während der Inkubation binden in der Probe vorhandene Glutamatdehydrogenase sowie Toxin A und B an die Antikörper-Peroxidase-Konjugate. Die Antigen-Antikörper-Konjugat-Komplexe wandern durch ein Filterpad zu einer Membran, wo sie von den immobilisierten Glutamatdehydrogenase-spezifischen sowie Toxin A- und B-spezifischen Antikörpern der Linien eingefangen werden. Anschließend wird das *Reaktionsfenster* mit *Waschpuffer* gewaschen und *Substrat* zugegeben. Nach einer 10-minütigen Inkubationszeit wird die„Ag“-Reaktion mittels Sichtkontrolle auf das Erscheinen einer vertikalen blauen Linie auf der „Ag“-Seite des *Reaktionsfensters* untersucht. Eine blaue Linie weist auf einen positiven Test hin. Ist die „Ag“-Reaktion positiv, so muss die „Tox“-Reaktion mittels Sichtkontrolle auf das Erscheinen einer blauen Linie auf der „Tox“-Seite des *Reaktionsfensters* untersucht werden. Eine blaue Linie weist auf einen positiven Test hin. Eine positive „C“-Reaktion, angezeigt durch eine vertikale gepunktete blaue Linie unter dem „C“-Bereich des *Reaktionsfensters*, bestätigt, dass der Test ordnungsgemäß funktioniert und die Ergebnisse gültig sind.

PACKUNGSINHALT

MEM | DEV — ***Testkarten*** – jeder Beutel enthält 1 Testkarte

DIL | SPE — ***Verdünnungspuffer* (22 ml pro Flasche)** – Gepufferte Proteinlösung mit graduiertem Tropfer (enthält 0,05 % ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Waschpuffer* (12 ml pro Flasche)** – Gepufferte Lösung mit graduiertem Tropfer (enthält 0,05 % ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Substrat* (3,5 ml pro Flasche)** – Lösung mit Tetramethylbenzidin

CONJ | ENZ — ***Konjugat* (2,5 ml pro Flasche)** – GLDH-spezifischer Antikörper, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, und Toxin A- und -B-spezifischer Antikörper, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, in einer gepufferten Proteinlösung (enthält 0,05 % ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Positive Kontrolle* (2 ml)**– Antigen in einer gepufferten Proteinlösung

Einweg-Kunststofftransferpipetten – graduiert bei 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL und 500 µL

IVD — Für die *in-vitro* Diagnostik

*Signalwort: Warnung
H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT ENTHALTEN)

Kleine Reagenzgläser (z. B. Mikrozentrifugen-Reagenzgläser aus Kunststoff oder Glas)
Applikatorstäbchen — *Zeitmesser* — *Vortex-Schüttler*
Einweghandschuhe zur Handhabung der Stuhlproben — *Pipettierer und Pipettenspitzen*

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum de s Testkits ist auf dem Packungsetikett angegeben. Das Verfallsdatum für die einzelnen Bestandteile ist auf den jeweiligen Etiketten angegeben. Das Kit muss zwischen 2° C und 8° C gelagert werden.

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.
2. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen oder miteinander vertauschen. Verwenden Sie das Testkit nicht nach dem Verfallsdatum.

Professional Use Only

3. Sämtliche Bestandteile des Kits müssen auf Anzeichen für Undichtigkeit untersucht werden. Bei Erhalt des Kits muss sichergestellt werden, dass die Bestandteile nicht wegen unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind.
4. Lassen Sie alle Bestandteile VOR DER VERWENDUNG RAUMTEMPERATUR annehmen!
5. Verschlüsse, Spitzen und Tropfer sind farbkodiert; NICHT vertauschen!
6. Reagenzien nicht einfrieren. Das Kit muss zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.
7. Der Beutel mit der *Testkarte* muss vor dem Öffnen Raumtemperatur angenommen haben. Testkarten vor Gebrauch trocken lagern.
8. Verwenden Sie Stuhlproben nach Entnahme innerhalb von 72 Stunden, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Gefrorene Proben können aufgrund des Einfrier- und Auftauvorgangs Aktivitätsverluste aufweisen. Gefrorene Proben bei Raumtemperatur auftauen.
9. Halten Sie die Reagenzflaschen bei der Reagenzienausgabe senkrecht, um eine einheitliche Tropfengröße und korrekte Menge sicherzustellen.
10. Proben und Testkarten nach dem Gebrauch als potenzielle biologische Gefahrstoffe behandeln und entsorgen.
11. Die Testkarten dürfen nicht wiederverwendet werden.
12. Der Test wurde auf Sensitivität und Spezifität optimiert. Abweichungen vom angegebenen Verfahren und/oder Änderungen der Testbedingungen können die Sensitivität und Spezifität des Tests beeinflussen. Halten Sie sich genau an die Anweisungen.
13. Achten Sie beim Testen mehrerer Stuhlproben auf die Gesamttestzeit. Geben Sie zuerst den *Verdünnungspuffer* und dann das *Konjugat* in jedes Reagenzglas mit *Verdünnungspuffer* hinzu. Geben Sie hierauf die Probe in das Reagenzglas mit dem *Verdünnungspuffer/Konjugat*. Mischen Sie die verdünnten Proben gründlich durch und übertragen Sie diese dann auf die *Testkarte*. Der 15-minütige Inkubationsschritt beginnt nach Übertragung der letzten verdünnten Proben-Konjugat-Mischung auf die letzte *Testkarte*.
14. Sollte das *Substratreagens* eine dunkelblaue/violette Färbung annehmen, so wenden Sie sich bitte an den Kundendienst für einen Ersatz.
15. Stuhlproben können potenzielle Infektionserreger enthalten und sind wie im CDC/NIH-Handbuch „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ (Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Labors) empfohlen nach „Biosicherheitsstufe 2“ zu handhaben.
16. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
17. Das *Konjugat*, der *Verdünnungspuffer* und der *Waschpuffer* enthalten 0,05% ProClin® 300 als Konservierungsstoff. Auch wenn die Konzentration gering ist, ist ProClin® 300 als schädlich bekannt (Hautsensibilisierung kann auftreten). Bei Hautsensibilisierung/-reizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den Kundendienst.
18. Befolgen Sie Ihre nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung.

ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG DER STUHLPROBEN

Akzeptable Probentypen
Frische Stuhlproben
Gefrorene Stuhlproben
Proben in Transportmedien (Cary Blair, C&S)

Nicht verwenden
Stuhlproben in Fixiermittel auf Formalinbasis (z.B. Natriumacetat-Formalin, Formalin 10%, Merthiolat-Formalin)
Stuhlproben in Fixiermittel auf Alkoholbasis (z.B. Polyvinylalkohol)

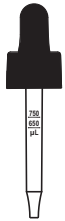
Probenlagerung Temperatur	Akzeptable Lagerdauer	Anmerkungen
2° C – 8° C	72 Stunden	Optimal sind Proben, die weniger als 24 Stunden alt sind.
Gefroren bei ≤ -10° C	Länger als 72 Stunden	Bei Raumtemperatur auftauen. Mehrmaliges Einfrieren und Auftauen kann zu einem Aktivitätsverlust aufgrund von Toxinverfall führen.

1. Für die Entnahme und Handhabung von Stuhlproben sind die üblichen Labormethoden geeignet.
2. Für die Entnahme der Stuhlproben sind saubere, dichte Behälter zu verwenden.
3. Stuhlproben sollten NICHT im *Verdünnungspuffer*gelagert werden.
4. Lassen Sie die Stuhlproben nie länger als 24 Stunden in der *Verdünnungspuffer*/*Konjugat*-Mischung.

VORBEREITUNG DER PROBEN

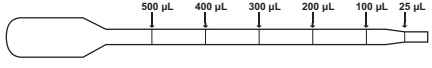
1. Lassen Sie alle Reagenzien und die erforderliche Anzahl von Testkarten vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen. Es empfiehlt sich, die Reagenzien aus dem Schaumstoffeinsatz zu nehmen, um die Aufwärmzeit zu verkürzen.
2. Benutzen Sie für jede Stuhlprobe und zusätzliche externe Kontrolle ein eigenes kleines Reagenzglas und beschriften Sie es.
3. Geben Sie mithilfe des graduierten schwarzen Tropfers 750 µl (2. Markierung von der Spitze weg) *Verdünnungspuffer* in jedes Stuhlproben-Reagenzglas. **Bei Proben in Transportmedien wie Cary Blair oder C&S geben Sie 650 µl *Verdünnungspuffer* (1. Markierung von der Spitze weg) in das Reagenzglas.**

Probentyp	Menge *Verdünnungspuffer*
Frische Stuhlproben	750 µl (2. Markierung von der Spitze weg)
Gefrorene Stuhlproben (gefroren unverdünnt)	750 µl (2. Markierung von der Spitze weg)
Proben in Transportmedien (Cary Blair, C&S)	650 µl (1. Markierung von der Spitze weg)
Externe Kontrollen (positive und negative)	750 µl (2. Markierung von der Spitze weg)



4. Fügen Sie jedem Reagenzglas einen Tropfen *Konjugat* (Flasche mit rotem Verschluss) hinzu.
5. Verwenden Sie eine Einweg-Kunststoffpipette (im Lieferumfang enthalten) für jede Probe – die Pipetten sind bei 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL und 500 µL gaduiert.

Graduierte Transferpipette:



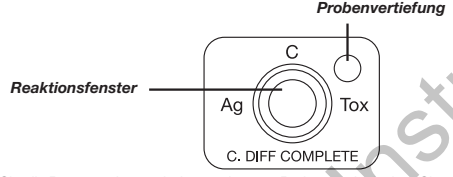
For instructional use Only

6. **Mischen Sie alle Proben unabhängig von ihrer Konsistenz gründlich durch – eine gleichmäßige Suspension der Proben vor dem Übertragen ist unbedingt erforderlich.**
   Flüssige/Halbfeste Proben – Pipettieren Sie 25 µl Probe mit einer Transferpipette und dispensieren Sie die Probenmenge in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung. Verwenden Sie dieselbe Transferpipette zum Mischen der verdünnten Probe.
   Geformte/Feste Stuhlproben – Achten Sie genau darauf, dass Sie der Probenmischung die korrekte Stuhlmenge beifügen. Mischen Sie die Probe gründlich mithilfe eines Holzstäbchens durch und übertragen Sie eine kleine Probenmenge (ca. 2 mm Durchmesser, entspricht der Menge von 25 µl) in die Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung. Emulgieren Sie die Probe mit dem Applikatorstäbchen.
   Proben in Cary Blair oder C&S -Transportmedien - Pipettieren Sie 100 µl (2. Graduierung aus der Spitze der Transferpipette) Probe in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung.
7. **Optionale externe Kontrollproben:**
   Externe positive Kontrolle– Geben Sie einen Tropfen *positive Kontrolle* (Flasche mit grauem Verschluss) in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung.
   Externe negative Kontrolle– Geben Sie 25 µl *Verdünnungspuffer* in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung.

BITTE BEACHTEN: Ist die übertragene Probenmenge zu gering oder wird die Probe in der Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung nicht ausreichend gemischt und vollständig suspendiert, kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Eine zu große Probenmenge kann aufgrund des beeinträchtigten Probenflusses zu ungültigen Ergebnissen führen.

TESTVERFAHREN

1. Nehmen Sie eine *Testkarte* pro Probe und eine Testkarte für die zusätzliche externe positive oder negative Kontrolle (optional) zur Hand. Die Folienbeutel mit den Testkarten müssen dem Öffnen auf Raumtemperatur gebracht werden. Verwenden Sie die Testkarte sofort nach dem Öffnen. Beschriften Sie jede Karte ordnungemäß und legen Sie diese so auf eine flache Oberfläche, dass sich der Aufdruck „C. DIFF COMPLETE“ unten auf der Karte und die kleine Probenvertiefung in der rechten oberen Ecke der Karte befinden.



2. Verschließen Sie alle Reagenzgläser mit den verdünnten Proben und mischen Sie gründlich. Gründliches Mischen erzielen Sie mittels Vortexen oder Umdrehen des Reagenzglases. Nach der Verdünnung einer Patientenprobe oder *positiven Kontrolle* in der *Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung* kann diese bei Raumtemperatur für eine beliebig lange Zeitdauer bis max. 24 Stunden vor dem Übertragen auf die *Testkarte* inkubiert werden.
3. Mithilfe einer neuen Transferpipette übertragen Sie 500 µl der verdünnten Proben-Konjugat-Mischung in die ***Probenvertiefung*** (kleineres Loch in der oberen rechten Ecke der Karte) einer *Testkarte*. Stellen Sie dabei sicher, dass die flüssige Probe auf das Wicking-Pad im Inneren der *Testkarte* gelangt. Stellen Sie beim Übertragen der Probe in die Probenvertiefung sicher, dass die Spitze der Transferpipette auf das *Reaktionsfester* zeigt (größeres Loch in der Mitte der Testkarte).
4. Inkubieren Sie die Testkarte 15 Minuten bei Raumtemperatur – die Probe sickert durch die Karte und eine Feuchtstelle breitet sich im *Reaktionsfenster aus*.
   HINWEIS FÜR PROBEN, DIE NICHT MIGRIEREN:
   Gelegentlich migriert eine verdünnte Probe nicht richtig und das Reaktionsfenster wird nicht vollständig befeuchtet. Wenn das Reaktionsfenster nicht innerhalb von 5 Minuten nach dem Hinzufügen der Probe in die Probenvertiefung vollständig feucht erscheint, geben Sie 100 µl (4 Tropfen) Verdünnungspuffer in die Probenvertiefung und warten weitere 5 Minuten (insgesamt 20 Minuten lang).
5. Nach der Inkubation geben Sie 300 µl *Waschpuffer* in das ***Reaktionsfenster***. Verwenden Sie dazu den graduierten weißen Tropfer. Warten Sie, bis der *Waschpuffer* durch die Membran des Reaktionsfensters geflossen und vollständig absorbiert ist.
6. Fügen Sie dem ***Reaktionsfenster*** 2 Tropfen *Substrat* (Flasche mit weißem Verschluss) bei. Ergebnisse nach 10 Minuten visuell ablesen und aufzeichnen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

1. Die Auswertung des Tests ist am verlässlichsten, wenn die Ergebnisse sofort nach Ende der zehnminütigen Reaktionszeit abgelesen werden. Lesen Sie die Testkarte bei normalem Arbeitsabstand und in einer gut beleuchteten Umgebung ab. Folgen Sie einer Sichtlinie direkt über der Testkarte.
2. Prüfen Sie, ob in der Mitte des *Reaktionsfensters* blaue Punkte, die sogenannte interne positive Kontrolle, sichtbar sind. Das Erscheinen einer gepunkteten Kontrolllinie gilt als gültige interne Kontrolle. Der Hintergrund erscheint weiß bis hellblau. Prüfen Sie, ob blaue Linien auf den „Ag“- und „Tox“-Seiten des *Reaktionsfensters*, die sogenannten Testlinien, sichtbar sind. Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein.
3. **Positives Ergebnis für Antigen („Ag“):** Ein positives Antigen-Ergebnis kann innerhalb des Zeitraums zwischen der Beigabe des *Substrats* und der 10-minütigen Ablesezeit ausgewertet werden. Ein positives Antigen-Ergebnis weist eine sichtbare blaue „Ag“-Linie und eine sichtbare gepunktete blaue Kontrolllinie unter dem „C“ auf (Abb. 1a). Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein. Eine deutlich sichtbare Teillinie gilt als positives Ergebnis. Interpretieren Sie eine Membranverfärbung nicht als positives Ergebnis. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass *C. difficile* vorhanden ist.
4. **Positives Ergebnis für Antigen und Toxin („Tox“):** Gehen Sie im Falle eines positiven Antigen-Ergebnisses (d. h. eine blaue „Ag“-Linie und eine gepunktete blaue Kontrolllinie unter dem „C“ sind sichtbar) zur Auswertung des Toxin-Ergebnisses über. Ein positives Ergebnis kann innerhalb des Zeitraums zwischen der Beigabe des *Substrats* und der 10-minütigen Ablesezeit interpretiert werden. Ein positives Toxin-Ergebnis weist eine sichtbare blaue „Tox“-Linie auf (Abb. 1b). Die Farbintensität der Linie kann schwach bis stark sein. Eine deutliche Teillinie gilt als positives Ergebnis. Interpretieren Sie eine Membranverfärbung nicht als positives Ergebnis. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass *C. difficile*-Toxin vorhanden ist.
5. **Negatives Ergebnis:** Ein Test kann erst frühestens 10 Minuten nach der Beigabe des *Substrats* als negativ oder ungültig interpretiert werden. Eine einzelne blaue gepunktete Linie ist in der Mitte des *Reaktionsfensters* unter dem „C“ sichtbar und es sind keine Testlinien auf der „Ag“- bzw. „Tox“-Seite des *Reaktionsfensters* sichtbar (Abb. 1c). Ein negatives Ergebnis im Antigenbereich zeigt an, dass entweder kein *C. difficile*-Antigen in der Probe vorhanden ist oder der Wert unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt. Ein negatives Ergebnis im Toxinbereich zeigt an, dass entweder kein C. difficile-Toxin in der Probe vorhanden ist oder der Wert unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt.
6. **Ungültiges Ergebnis:** Es sind keine Linien im Reaktionsfester sichtbar (Abb. 1d). Das Testergebnis ist ungültig, wenn nach abgeschlossener Reaktion keine blaue gepunktete Linie unter dem „C“ sichtbar ist (Abb. 1e, 1f, 1g).
7. **Negatives Ergebnis für Antigen („Ag“), positives Ergebnis für Toxin („Tox“):** Ein geringer Probenanteil liefert möglicherweise ein negatives Ergebnis für Antigen und positives Ergebnis für Toxin. Diese Proben gelten als unbestimmt und müssen mit einer neuen Stuhlprobe nochmals getestet werden (Abb. 1h). Wenn die Probe wiederholt negativ für Antigen, jedoch positiv für Toxin ist, so ist dies als positives Toxinergebnis zu verzeichnen.

Preinstructional Copy

ABBILDUNG 1: *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

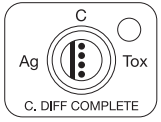


Abbildung 1a
Positives Antigen-Ergebnis

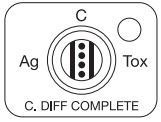


Abbildung 1b
Positives Antigen- und Toxin-Ergebnis

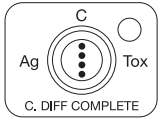


Abbildung 1c
Negatives Ergebnis

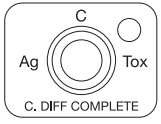


Abbildung 1d
Ungültiges Ergebnis

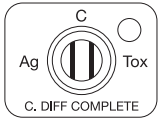


Abbildung 1e
Ungültiges Ergebnis

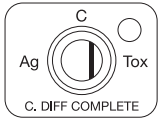


Abbildung 1f
Ungültiges Ergebnis

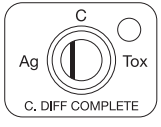


Abbildung 1g
Ungültiges Ergebnis

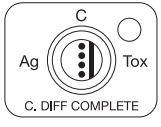


Abbildung 1h
Siehe Nr. 7 für Auswertung

QUALITÄTSKONTROLLE

Intern: Auf jeder *Testkarte* muss nach dem Test eine gepunktete blaue Linie in der Mitte des *Reaktionsfensters* unter dem „C" sichtbar sein. Die blaue gepunktete Kontrolllinie bestätigt, dass Probe und Reagenzien korrekt zugegeben wurden, die Reagenzien während des Testverlaufs aktiv waren und eine korrekte Probenmigration durch die *Testkarte* stattgefunden hat. Sie bestätigt zudem die Reaktivität der anderen Reagenzien des Tests. Ein einheitlicher Hintergrund im Ergebnisbereich gilt als interne negative Kontrolle. Bei korrekt durchgeführtem Test und ordnungsgemäßer Funktion der Reagenzien ist der Hintergrund weiß, um ein erkennbares Ergebnis zu liefern.

Extern: Die Reaktivität des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Kits muss bei Erhalt anhand der *positiven Kontrolle* und der negativen Kontrolle (*Verdünnungspuffer*) überprüft werden. Die *positive Kontrolle* ist im Kit enthalten (Flasche mit grauem Verschluss). Die *positive Kontrolle* dient zur Überprüfung der Reaktivität der anderen Testreagenzien und ist nicht zur Bestätigung der Verlässlichkeit beim analytischen Cut-off des Tests bestimmt. Als negative Kontrolle wird der *Verdünnungspuffer* verwendet. Es können auch weitere Tests mit den Kontrollen durchgeführt werden, um die Anforderungen lokaler, landes- und/oder bundesweiter Vorschriften und/oder von Zertifizierungsbehörden zu erfüllen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Der *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test dient zum Nachweis von C. difficile-Antigen und Toxin(en) in Stuhlproben. Der Test bestätigt das Vorhandensein von Toxin im Stuhl. Diese Information muss vom Arzt angesichts der Krankengeschichte und körperlichen Untersuchung des Patienten interpretiert werden. Der *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®Test weist Toxin A bei Konzentrationen von ≥0,63 ng/ml, Toxin B bei Konzentrationen von ≥0,16 ng/ml und Glutamatdehydrogenase bei Konzentrationen von ≥0,8 ng/ml nach.
2. Stuhlproben sind überaus komplex. Optimale Ergebnisse werden beim *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test mit Proben erzielt, die weniger als 24 Stunden alt sind. Die meisten unverdünnten Proben können bei 2° C - 8° C für 72 Stunden gelagert werden, bevor ein deutlicher Toxinverfall beobachtet wird. Wenn die Proben nicht innerhalb dieses Zeitraums getestet werden, können sie eingefroren und später wieder aufgetaut werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen kann allerdings zu verminderter Immunreaktivität des Antigens und der Toxine A und B führen.
3. Einige Proben können schwach reagieren. Dies kann auf mehrere Faktoren zurückgeführt werden, wie etwa geringe Antigen- und/oder Toxinkonzentration, das Vorhandensein bindender Substanzen oder inaktivierender Enzyme im Stuhl. Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein. Diese Proben sind als positiv aufzuzeichnen, wenn eine blaue Linie oder blaue Teillinie beobachtet wird. Eine deutliche Teillinie gilt als positives Ergebnis.
4. Stuhlproben, die in 10 % Formalin, Merthiolat-Formalin, Natriumacetat-Formalin oder Polyvinylalkohol konserviert wurden, dürfen nicht verwendet werden.
5. Der *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test ist qualitativ. Die Farbintensität darf nicht quantitativ interpretiert werden.
6. Einige Isolate von *C. sordellii* reagieren möglicherweise im *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test, da sie immunologisch verwandte Toxine produzieren (1).
7. Bei Kleinkindern wurden Kolonisationsraten von bis zu 50 % beobachtet. Auch bei Mukoviszidose-Patienten wurde eine hohe Rate beobachtet (1,3). In diesen Gruppen können positive Ergebnisse auftreten, es sollte jedoch die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, dass es sich um einen kolonisierten Träger handelt.
8. Der einzige nicht-*C. difficile*-Organismus, der im Toxinbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Tests reagierte, war *Clostridium sordellii* VPI 9048. Dieser Stamm produziert HT- und LT-Toxine, die Toxin A bzw. Toxin B entsprechen.
9. Es liegen keine Daten zur Wirkung von Darmspülungen, Bariumeinläufen, Laxativen oder Darmpräparationen auf die Leistung des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Tests vor. Alle diese Verfahren können zu einer signifikanten Verdünnung oder dem Vorhandensein von Zusatzstoffen führen, die sich auf die Testleistung auswirken.

ERWARTUNGSWERTE

Clostridium difficile-Erkrankungen treten vor allem als nosokomiale Infektionen bei älteren Patienten auf. Die Häufigkeit hängt dabei von Faktoren wie der Patientenpopulation, Art der Anstalt und der Epidemiologie ab. *C. difficile*-Erkrankungen bei Patienten mit antibiotikabedingter Diarrhoe wurden mit einer Häufigkeit von 5-20 % festgestellt, Krankenhäuser können aber auch geringere oder höhere Raten aufweisen. Die Testergebnisse müssen stets gemeinsam mit klinischen Symptomen interpretiert werden, denn einige gesunde Erwachsene sowie viele gesunde Kleinkinder (bis zu 50 %) liefern ein positives Testergebnis für *C. difficile*-Toxin. Zudem wurde bei Mukoviszidose-Patienten eine *C. difficile*-Trägerrate von 22 - 32 % festgestellt (1,3). In den zu diesem Test durchgeführten Studien mit symptomatischen Patienten wurden Toxin A und B mit einer Häufigkeit von 12% und GLDH mit einer Häufigkeit von 18% festgestellt. Ein positives Ergebnis im Antigenbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Tests bestätigt, dass *C. difficile* in einer Stuhlprobe vorhanden ist; ein negatives Ergebnis zeigt an, dass der Organismus nicht vorhanden ist. Ein positives Ergebnis im Toxinbereich des *C.*

For instructional purposes only

DIFF QUIK CHEK COMPLETE® bestätigt, dass *C. difficile*-Toxin in einer Stuhlprobe vorhanden ist; ein negatives Ergebnis zeigt an, dass entweder kein Toxin vorhanden ist oder die Toxinkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt.

LEISTUNGSDATEN

Klinische Beurteilung des Antigenbereichs des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests

Der Antigenbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests wurde mit Bakterienkultur verglichen. Die dabei untersuchten Proben wurden für Routinetests in die klinischen Labors eingesandt. Die Bakterienkultur wurde nach internen Verfahren durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1. Zusammenfassung der klinischen Leistung beim Vergleich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests mit Bakterienkultur

Az = 1126	Bakterienkultur Positiv	Bakterienkultur Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinie positiv	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinie negativ	21	842

		95%-Konfidenzgrenzen
Sensitivität	90,5%	85,7 – 93,9
Spezifität	93,1%	91,2 – 94,7
Positiver Vorhersagewert	76,4%	70,7 – 81,3
Negativer Vorhersagewert	97,6%	96,2 – 98,4
Korrelation	92,6%	91,8 – 93,4

Abweichende Proben wurden unter Verwendung gängiger ELISA-Tests für den Nachweis von *C. difficile*-Glutamatdehydrogenase beurteilt.
29 der 62 falsch-positiven Proben lieferten bei einem weiteren GLDH-Test ein positives Ergebnis und wurden als echt positiv betrachtet.
13 der 21 falsch-negativen Proben lieferten bei einem weiteren GLDH-Test ein negatives Ergebnis und wurden als echt negativ betrachtet.

Der Antigenbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests wurde mit Gewebekultur für den Nachweis von C. difficile-Toxin verglichen. Die dabei untersuchten Proben wurden für Routinetests in die klinischen Labors eingesandt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt. Der Antigenbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests wies 98,7% der mit Gewebekultur positiven Proben nach.

Tabelle 2. Zusammenfassung der klinischen Leistung beim Vergleich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests mit Gewebekultur

Az = 1126	Gewebekultur Positiv	Gewebekultur Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinie positiv	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinie negativ	2	861

Klinische Beurteilung des Toxinbereichs des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests

Der Toxinbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests wurde mit Gewebekultur in zwei klinischen Labors sowie intern bei TECHLAB, Inc verglichen. Die dabei untersuchten Proben wurden für Routinetests in die klinischen Labors eingesandt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3. Zusammenfassung der klinischen Leistung beim Vergleich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* Tests mit Gewebekultur

Az = 1126	Gewebekultur Positiv	Gewebekultur Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxinlinie positiv	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxinlinie negativ	19	964

		95%-Konfidenzgrenzen
Sensitivität	87,8%	81,4 - 92,3
Spezifität	99,4%	98,6 - 99,7
Positiver Vorhersagewert	95,8%	90,7 - 98,3
Negativer Vorhersagewert	98,1%	96,9 - 98,8
Korrelation	97,8%	97,6 - 98,0

Abweichende Proben wurden unter Verwendung gängiger ELISA-Tests für den Nachweis von Toxin A und B beurteilt.
5 der 6 falsch-positiven Proben lieferten beim ELISA ein positives Ergebnis und wurden als echt positiv betrachtet.
12 der 19 falsch-negativen Proben lieferten beim ELISA ein negatives Ergebnis und wurden als echt negativ betrachtet.

For Instructional Use Only

AUSWIRKUNGEN DER STUHLKONSISTENZ

Auswirkungen der Stuhlkonsistenz auf den *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test

Die Reaktionen der Stuhlproben unterschiedlicher Konsistenz im Antigenbereich (Az. =978) und Toxinbereich (Az. =981) des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Tests sind in Tabelle 4 und 5 dargestellt. Der Prozentsatz an positiven Reaktionen bei Gewebekultur bzw. dem *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test war bei allen drei Stuhlprobentypen (flüssig, halbfest und fest) ähnlich. Alle Proben wurden zum Testen auf C. difficile eingesandt. Ob eine Probe getestet wurde oder nicht, hing von der Krankengeschichte des Patienten, nicht von der Probenkonsistenz ab. Die Ergebnisse des Antigenbereichs zeigen, dass der *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test und Bakterienkultur beim Testen von Proben mit unterschiedlicher Konsistenz eine ähnliche Leistung erbrachten. Die Ergebnisse des Toxinbereichs zeigen, dass der *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test und Gewebekultur beim Testen von Proben mit unterschiedlicher Konsistenz eine ähnliche Leistung erbrachten.

Tabelle 4. Reaktion von Stuhlproben unterschiedlicher Konsistenz im Antigen bereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Tests

Anzahl der Proben (Az = 978)	Flüssige Proben (Az = 335)	Halbfeste Proben (Az = 522)	Feste Proben (Az = 121)
Positiv bei Bakterienkultur	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinie positiv	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Negativ bei Bakterienkultur	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinie negativ	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tabelle 5. Reaktion von Stuhlproben unterschiedlicher Konsistenz im Toxinbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Tests

Anzahl der Proben (Az = 981)	Flüssige Proben (Az = 336)	Halbfeste Proben (Az = 523)	Feste Proben (Az = 122)
Positiv bei Gewebekultur	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxinlinie positiv	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Negativ bei Gewebekultur	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxinlinie negativ	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Der Cut-off für den Test wurde bei einer Konzentration von 0,63 ng/ml für Toxin A, 0,16 ng/ml für Toxin B und 0,8 ng/ml für Glutamatdehydrogenase bestimmt.

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Tests wurde anhand von 12 Stuhlproben bestimmt, die zur Verhinderung ihrer Identifizierung während des Tests kodiert wurden. Die Tests wurden in 3 unabhängigen Labors an 3 Tagen durchgeführt. Die Proben lieferten zu 100 % die erwarteten Ergebnisse.

KREUZREAKTIVITÄT

Mit folgenden Mikroorganismen (bis zu einer Endkonzentration von ca. 10^8 oder mehr Organismen/ml) beimpfte Stuhlproben zeigten im Antigen- bzw. Toxinbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Tests keine Reaktion:

Bakterium bzw. Erreger: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (nicht toxigen), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Der einzige nicht-*C. difficile*-Organismus, der im Toxinbereich des *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test reagierte, war *Clostridium sordellii* VPI 9048. Dieser Stamm produziert HT- und LT-Toxine, die Toxin A bzw. Toxin B entsprechen.

Folgende Viren ($10^{3.3}$ - $10^{8.25}$ TCID-Einheiten / 0,2 ml) zeigten im *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test keine Reaktion:

Viren: Adenoviren 1,2,3,5,40,41, humaner Coronavirus, Coxsackievirus B2,B3,B4,B5, Echovirus 9,11,18,22,33, Enteroviren 68,69,70,71, Rotavirus.

STÖRSUBSTANZEN

Folgende Substanzen (US-Formulierung) wirkten sich, wenn in den angegebenen Konzentrationen im Stuhl vorhanden, nicht auf die Testergebnisse aus: Mucin (3,5% w/v), humanes Blut (40% v/v), Bariumsulfat (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Stearinsäure/Palmitinsäure (40% w/v), Metronidazol (0,25% w/v), Vancomycin (0,25% w/v).

REAKTION KLINISCHER ISOLATE AUF CYCLOSERIN-CEFOXITIN-FRUKTOSE-AGAR (CCFA)

Insgesamt wurden 103 aus anaerober Bakterienkultur auf CCFA nach 3 Tagen bei 37° C gewonnene klinische *C. difficile*-Isolate mit dem *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® Test getestet. Für die Untersuchung wurden einzelne Kolonien ausgewählt und in *Verdünnungspuffer* gemäß Empfehlungen für Stuhlproben suspendiert. Alle 103 Isolate zeigten eine positive Antigenreaktion im Test.

70 der 103 Isolate (68%) stammten aus Stuhlproben, die mit Gewebekultur ein positives Ergebnis für *C. difficile*-Toxin lieferten. 56 (80%) von diesen zeigten beim Screening nach anaerobem Wachstum auf CCFA (3 Tage bei 37° C) eine positive Toxinreaktion.

For Instruction Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

UTILISATION PRÉVUE

Le test TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* est un dosage immunoenzymatique membranaire rapide pour la détection simultanée de l'antigène glutamate déshydrogénase *Clostridium difficile* et des toxines A et B dans un puits à réaction simple. Ce test détecte l'antigène du *C. difficile*, le glutamate déshydrogénase, comme marqueur de la présence de *C. difficile* et confirme la présence de souches toxinogènes de *C. difficile* en dépistant la présence des toxines A et B dans les échantillons de selles chez les personnes suspectées de la maladie *C. difficile*. Le test doit être utilisé comme aide dans le diagnostic de la maladie *C. difficile*. Ses résultats doivent, comme pour tous les autres tests *C. difficile*, être évalués en tenant compte des antécédents du patient.

EXPLICATION

Après un traitement antibiotique, de nombreux patients développent des problèmes gastro-intestinaux pouvant aller d'une légère diarrhée à des colites pseudomembraneuses. De nombreuses formes légères de maladies gastro-intestinales et la plupart des cas de colites pseudomembraneuses sont dues à des souches toxinogènes de *Clostridium difficile* (1). Cet organisme est une bactérie anaérobie à germes opportunistes qui se développe dans l'intestin dès la modification de la flore normale par l'antibiotique. Les souches toxinogènes de *C. difficile* sont porteuses de gènes qui codent les toxines alors que les souches non toxinogènes ne sont pas porteuses de gènes de toxines. La pathologie se développe à partir des toxines produites par l'organisme toxinogène. Les symptômes cliniques associés à la maladie sont d'abord considérés comme étant dus à la toxine A, une entérotoxine qui endommage les tissus (2,3). Le *C. difficile* produit également une deuxième toxine appelée toxine B. Cette dernière, qui est considérée comme la cytotoxine de l'organisme, est détectée lors de l'essai par culture tissulaire actuellement utilisé dans de nombreux laboratoires. Les souches toxinogènes du *C. difficile* produisent les deux toxines ou uniquement la toxine B (4-7). Le glutamate déshydrogénase de *C. difficile* est un bon marqueur antigénique pour l'organisme qui se trouve dans les selles car il est produit en grosses quantités par toutes les souches, qu'elles soient toxinogènes ou non toxinogènes (8-10). L'antigène peut être détecté dans les échantillons de selles via le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Un résultat positif au test, spécifique à la glutamate déshydrogénase de *C. difficile*, confirme la présence de cet organisme dans les selles. Un résultat négatif indique l'absence de cet organisme. Le résultat positif au test portant sur les toxines A et B confirme la présence de souches toxinogènes de *C. difficile*.

PRINCIPE DU TEST

Le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* utilise des anticorps spécifiques à la glutamate déshydrogénase et aux toxines A et B de *C. difficile*. Le dispositif comporte une Fenêtre de réaction avec trois bandes verticales d'anticorps immobilisés. La bande d'antigène (« Ag ») comporte des anticorps contre la glutamate déshydrogénase de *C. difficile*. La bande de contrôle (« C ») est une bande en pointillés qui contient des anticorps anti-peroxydase de raifort (HRP). La bande de test pour les toxines A et B (« Tox ») contient des anticorps dirigés contre les toxines A et B de *C. difficile*. Le*Conjugué* est composé d'anticorps dirigés contre la glutamate déshydrogénase et contre les toxines A et B conjugués à la peroxydase de raifort. Pour réaliser le test, l'échantillon est ajouté à un tube contenant un mélange de *Diluant* et de *Conjugué*. Le mélange conjugué-échantillon dilué est placé dans le *Micropuits d'échantillon* et le dispositif est soumis à une période d'incubation de 15 minutes à température ambiante. Pendant l'incubation, la glutamate déshydrogénase et les toxines A et B éventuellement présentes dans l'échantillon se lient avec le conjugué peroxydase-anticorps. Les complexes conjugué-anticorps-antigènes migrent à travers un filtre vers une membrane où ils sont capturés par les anticorps immobilisés spécifiques à la glutamate déshydrogénase et aux toxines A et B sur la bandelette. La *Fenêtre de réaction* est ensuite lavée avec un *Tampon de lavage*. Un *Substrat* est ensuite ajouté. Au bout de 10 minutes d'incubation, la réaction « Ag » et l'apparition d'une ligne bleue verticale du côté « Ag » de la *Fenêtre de réaction* sont observées. Une ligne bleue indique un test positif. Si le test « Ag » est positif, la réaction « Tox » doit être observée pour constater si une ligne bleue est apparue dans la partie « Tox » de la *Fenêtre de réaction*. Une ligne bleue indique un test positif. Une réaction positive « C », indiquée par une ligne bleue verticale en pointillés, dans la zone de contrôle « C » de la *Fenêtre de réaction*, confirme que le test fonctionne correctement et que les résultats sont valides.

MATÉRIEL FOURNI

MEM | DEV — ***Dispositifs à membranes*** – un sachet contenant 1 dispositif

DIL | SPE — ***Diluant* (22 ml par flacon)** – Solution tamponnée et protéinée avec compte-gouttes gradué (contient du ProClin® 300 0,05 %)* ⚠

WASH | REAG — ***Tampon de lavage* (12 ml par flacon)** – Solution tamponnée avec compte-gouttes gradué (contient du ProClin® 300 0,05 %)* ⚠

SUBS | REAG — ***Substrat* (3,5 ml par flacon)** – Solution contenant du tétraméthylbenzidine

CONJ | ENZ — ***Conjugué* (2,5 ml par flacon)** – Anticorps spécifique à la glutamate déshydrogénase conjugué à la peroxydase de raifort et anticorps spécifique aux toxines A et B conjugué à la peroxydase de raifort dans une solution tamponnée de protéines (contient du ProClin® 300 0,05 %)* ⚠

CONTROL | + — ***Contrôle positif* (2 ml)** – Antigène dans une solution tamponnée et protéinée

Pipettes de transfert jetables en plastique – graduées de 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL et 500 µL

IVD — Pour une utilisation diagnostique *in vitro*

*Mot indicateur : Avertissement
H317 : Risque de réactions cutanées allergiques
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENTS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Petits tubes à essai (par exemple des microtubes à centrifugation en plastique ou en verre)
Écouvillons — *Minuterie* — *Agitateur vortex*
Gants jetables pour manipuler les échantillons de selles — *Pipeteur et embouts*

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration du kit est indiquée sur l'étiquette. La date d'expiration de chaque composant est indiquée sur chaque étiquette. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.

For Instructional Use Only

PRÉCAUTIONS À PRENDRE

1. Pour une utilisation diagnostique *in vitro*. Uniquement à usage professionnel.
2. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés ou échangés. Ne pas utiliser de kit dont la date d'expiration est dépassée.
3. Contrôler tous les éléments du kit afin de vérifier qu'ils ne présentent aucune fuite. Examiner le kit dès la réception afin de vérifier que les éléments ne sont ni congelés ni chauds au toucher en raison de conditions de transports inadéquates.
4. Placer tous les composants à TEMPÉRATURE AMBIANTE AVANT UTILISATION !
5. Les capsules, les embouts et les compte-gouttes sont classés par couleur. Ne PAS les mélanger !
6. Ne pas congeler les réactifs. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.
7. Le sachet contenant le *Dispositif à membrane* doit être à température ambiante avant ouverture. Maintenir les dispositifs à membranes au sec avant de les utiliser.
8. Utiliser les échantillons de selles dans les 72 heures suivant le prélèvement, et ce afin d'obtenir les meilleurs résultats possibles. Les échantillons congelés peuvent être moins actifs suite à la congélation et à la décongélation. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler à température ambiante.
9. Verser les réactifs en tenant les flacons verticalement de façon à instiller une goutte de taille adéquate et un volume qui convient.
10. Après leur utilisation, les échantillons et les dispositifs à membranes doivent être manipulés et jetés de la même façon que des matières présentant un danger biologique.
11. Les dispositifs à membranes ne peuvent pas être réutilisés.
12. Le test a été optimisé dans le sens de la sensibilité et de la spécificité. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test. Procéder conformément à la procédure spécifiée.
13. Vérifier la durée totale de l'analyse si plusieurs échantillons de selles sont testés. Ajouter d'abord le *Diluant* puis le *Conjugué* dans chaque tube de *Diluant*. Introduire ensuite l'échantillon dans le tube de *Diluant*/*Conjugué*. Mélanger soigneusement tous les échantillons dilués puis les transférer dans le *Dispositif à membrane*. L'étape d'incubation de 15 minutes commence dès que le dernier mélange conjugué-échantillon dilué est transféré sur le dernier *Dispositif à membrane*.
14. Si le *Substrat* prend une couleur bleu foncé/violet, appeler les services techniques pour procéder à un remplacement.
15. Les échantillons de selles peuvent contenir des agents potentiellement infectieux et doivent être manipulés selon le « Niveau de biosécurité 2 », comme le recommande le manuel du CDC/NIH, « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ».
16. S'équiper de gants jetables pendant le test.
17. Les réactifs du *Conjugué*, *Diluant* et *Tampon de lavage* contiennent 0,05 % de ProClin® 300 comme conservateur. Même si la concentration est faible, le ProClin® 300 est connu pour sa nocivité (risque de sensibilisation de la peau). En cas de sensibilisation/irritation de la peau ou d'éruption cutanée, consulter un médecin. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
18. Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets.

PRÉLÈVEMENT, MANIPULATION ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS DE SELLES

Types d'échantillons acceptables
Échantillons de selles frais
Échantillons de selles congelés
Échantillons dans un milieu de transport (Cary Blair, C&S)

Ne pas utiliser
Échantillons de selles fixés au formol (par ex. formole à base d'acétate de sodium, formol à 10 %, formol thimérosal)
Échantillons de selles fixés à l'alcool (par ex. alcool de polyvinyle)

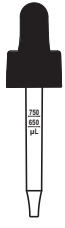
Entreposage d'échantillons Température	Longueur de stockage acceptable	Commentaires
2-8 °C	72 heures	Dans l'idéal, les prélèvements doivent avoir moins de 24 heures
Congelés à ≤ -10 °C	Plus de 72 heures	Décongélation à température ambiante. La multiplication des congélations et décongélations peut entraîner une perte d'activité de l'échantillon suite à une dégradation des toxines.

1. Les procédures standard utilisées sur place pour le prélèvement et la manipulation des échantillons de selles sont appropriées.
2. Les échantillons de selles doivent être prélevés dans des conteneurs propres et étanches.
3. Le stockage des échantillons de selles dans le *Diluant* est déconseillé.
4. Ne pas laisser les échantillons de selles dans le mélange *Diluant*/*Conjugué* pendant une période supérieure à 24 heures.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Placer tous les réactifs et le nombre de dispositifs nécessaires à température ambiante avant de les utiliser. Il est recommandé d'éliminer les réactifs du coussin en mousse afin de réduire le temps nécessaire au réchauffement à température ambiante.
2. Préparer et étiqueter un petit tube à essai pour chaque échantillon et pour chaque contrôle supplémentaire externe.
3. À l'aide du compte-gouttes gradué noir, ajouter 750 µl (2ème graduation depuis l'extrémité) de *Diluant* dans chaque tube d'échantillon de selles. **Pour les échantillons provenant d'un milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S, ajouter 650 µl (1ère graduation depuis l'extrémité) de *Diluant* dans le tube.**

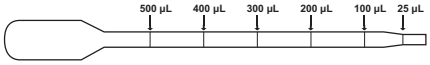
Type d'échantillon	Volume de *Diluant*
Échantillons de selles frais	750 µl (2ème graduation depuis l'extrémité)
Échantillon de selles congelé (non dilué)	750 µl (2ème graduation depuis l'extrémité)
Échantillons dans un milieu de transport (Cary Blair, C&S)	650 µL (1ère graduation depuis l'extrémité)
Contrôles externes (positifs et négatifs)	750 µl (2ème graduation depuis l'extrémité)



4. Ajouter une goutte de *Conjugué* (bouteille à capsule rouge) dans chaque tube.
5. Prendre une pipette de transfert jetable en plastique (fournie avec le kit) pour chaque échantillon – les pipettes présentent des graduations en relief à 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL et 500 µL.

For Instructional Use Only

Pipette de transfert graduée :

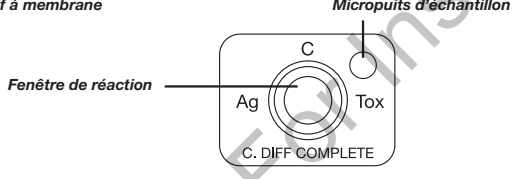


6. **Mélanger complètement tous les échantillons indépendamment de leur consistance. Les échantillons doivent tous être parfaitement suspendus avant le transfert.**
   Échantillons liquides ou semi-solides – Prélever 25 µl d'échantillon avec une pipette de transfert puis verser l'échantillon dans le mélange de *Diluant/Conjugué*. Utiliser la même pipette de transfert pour mélanger l'échantillon dilué.
   Échantillons moulés ou solides – Veiller à ajouter la quantité adéquate d'échantillons de selles au mélange témoin. Mélanger complètement l'échantillon à l'aide d'un écouvillon en bois et transférer un petit fragment (de 2 mm de diamètre environ, équivalent à 25 µl) de l'échantillon dans le mélange Diluant/Conjugué. Émulsionner l'échantillon à l'aide de l'écouvillon.
   Échantillons de selles provenant d'un milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S – Prélever 100 µl (2ème graduation depuis l'extrémité de la pipette de transfert) d'échantillon et les introduire dans le mélange *Diluant/Conjugué*.
7. **Échantillons témoins externes facultatifs :**
   Contrôle externe positif - Ajouter une goutte de *Contrôle positif* (bouteille à capsule grise) dans le mélange *Diluant/Conjugué*.
   Contrôle externe négatif - Ajouter 25 µL de *Diluant* dans le mélange *Diluant/Conjugué*.

REMARQUE : si le fragment transféré est trop petit, si le mélange est défectueux ou si l'échantillon n'est pas complètement suspendu dans le mélange Diluant/Conjugué, les résultats obtenus peuvent se révéler faussement négatifs. Une trop grande quantité de selles peut donner des résultats nuls à cause du débit limité.

PROCÉDURE DE TEST

1. Prendre un *Dispositif à membrane* par échantillon et un dispositif par contrôle externe facultatif positif ou négatif. Les sachets en aluminium contenant les dispositifs doivent être portés à température ambiante avant ouverture. Utiliser le dispositif immédiatement après ouverture. Étiqueter correctement chaque dispositif et l'orienter sur une surface plane de sorte que la mention « C. DIFF COMPLETE » se trouve en bas et que le Micropuits d'échantillon se trouve dans l'angle supérieur droit du dispositif.



2. Fermer chaque tube d'échantillon dilué et mélanger complètement. Pour obtenir un mélange approprié, procéder par mixage ou agitation du tube. Dès qu'un échantillon de patient ou un *Contrôle positif* a été dilué dans le mélange *Diluant/Conjugué*, il peut être incubé à température ambiante jusqu'à 24 heures avant d'être ajouté au *Dispositif à membrane*.
3. À l'aide d'une pipette de transfert neuve, transférer 500 µl du mélange échantillon-conjugué dilué dans le ***Micropuits d'échantillon*** (petite cavité située dans l'angle supérieur droit du dispositif) d'un *Dispositif à membrane*, en veillant à bien expulser l'échantillon liquide sur la garniture perméable située à l'intérieur du *Dispositif à membrane*. Lors de l'introduction de l'échantillon dans le micropuits, veiller à ce que l'extrémité de la pipette de transfert soit inclinée vers la *Fenêtre de réaction* (grande cavité au centre du dispositif).
4. Laisser incuber le dispositif à température ambiante pendant 15 minutes – l'échantillon sera absorbé par le dispositif et une zone humide apparaîtra dans la *Fenêtre de réaction*.
   NOTE CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS NE MIGRANT PAS :
   L'échantillon dilué ne parvient pas toujours à migrer correctement ; la Fenêtre de réaction n'est alors que partiellement humidifiée. Si la Fenêtre de réaction ne semble pas complètement humidifiée dans les 5 minutes suivant l'ajout de l'échantillon dans le Micropuits d'échantillon, ajouter 100 µl (4 gouttes) de Diluant dans le Micropuits d'échantillon, puis attendre 5 minutes supplémentaires (soit 20 minutes au total).
5. Après incubation, ajouter 300 µl de *Tampon de lavage* à l'aide du compte-gouttes blanc gradué dans la ***Fenêtre de réaction***. Laisser le *Tampon de lavage* pénétrer la Fenêtre de réaction et veiller à ce qu'il soit complètement absorbé.
6. Verser 2 gouttes de *Substrat* (bouteille à capsule blanche) dans la ***Fenêtre de réaction***. Lire et consigner les résultats visuels observés au bout de 10 minutes.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. L'interprétation du test est plus fiable lorsque le dispositif est lu immédiatement à la fin de la période de réaction de 10 minutes. Lire le dispositif à une distance normale dans une pièce bien éclairée en regardant directement le dessus du dispositif à la verticale.
2. Observer si une ligne en pointillés bleue apparaît au centre de la *Fenêtre de réaction* : il s'agit du contrôle positif interne. L'aspect des bandes de contrôle représente un contrôle interne valide. Le fond peut apparaître blanc à bleu clair. Observer l'apparition de lignes bleues dans les zones « Ag » et « Tox » de la *Fenêtre de réaction* : ce sont les bandes de test. Les bandes peuvent présenter une couleur claire à foncée.
3. **Résultat positif pour l'antigène (« Ag ») :** un résultat positif pour l'antigène peut être interprété à tout moment entre l'adjonction de *Substrat* et le temps de lecture (10 minutes). Dans le cas d'un résultat positif pour l'antigène, la bande « Ag » bleue et la bande de contrôle bleue en pointillés sous le « C » doivent être visibles (Figure 1a). Les bandes peuvent présenter une couleur claire à foncée. Une ligne partielle évidente est interprétée comme un résultat positif. La décoloration de la membrane ne peut pas être interprétée comme un résultat positif. Un résultat positif indique la présence de *C. difficile*.
4. **Résultat positif pour l'antigène et la toxine (« Tox ») :** si le résultat pour l'antigène est positif (c'est-à-dire qu'une bande « Ag » bleue et une bande de contrôle bleue en pointillés sous « C » sont visibles), procéder à l'interprétation du résultat pour la toxine. Un résultat positif pour la toxine peut être interprété à tout moment entre l'adjonction de *Substrate* et le temps de lecture (10 minutes). Dans le cas d'un résultat positif pour la toxine, une bande « Tox » bleue est visible (Figure 1b). La bande peut présenter une couleur très claire à très foncée. Une ligne partielle évidente est interprétée comme résultat positif. La décoloration de la membrane ne peut pas être interprétée comme un résultat positif. Un résultat positif indique la présence de toxine *C. difficile*.
5. **Résultat négatif :** les tests ne peuvent pas être interprétés comme négatifs ou invalides moins de 10 minutes après l'adjonction du *Substrat*. Une seule ligne en pointillés bleue est visible au centre de la *Fenêtre de réaction*, sous le « C » et aucune bande de test n'est visible sur la zone « Ag » ou « Tox » de la *Fenêtre de réaction* (Figure 1c). Un résultat négatif dans la zone d'antigène indique

For instructional purposes only

soit l'absence d'antigène *C. difficile* dans l'échantillon, soit un taux inférieur à la limite de détection du test. Un résultat négatif dans la zone de toxine indique soit l'absence de toxine C. difficile dans l'échantillon, soit un taux inférieur à la limite de détection du test.

6. **Résultat nul :** aucune bande n'est visible dans la Fenêtre de réaction (Figure 1d). Le résultat de test est nul si aucune bande en pointillés bleue n'est présente sous le « C » à la fin de la période de réaction (Figures 1e, 1f, 1g).
7. **Résultat négatif pour l'antigène (« Ag »), toxine positive (« Tox ») :** un faible pourcentage d'échantillons peut présenter des résultats négatifs pour l'antigène tout en étant positif pour la toxine. Ces échantillons doivent être considérés comme indéterminés et à nouveau testés avec des échantillons récents (Figure 1h). Si le nouveau test de l'échantillon est négatif pour l'antigène mais positif pour la toxine, consigner un résultat de toxine positif.

FIGURE 1 : INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DU TEST *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

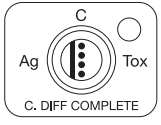


Figure 1a
Résultat positif pour l'antigène

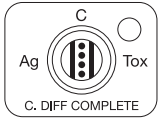


Figure 1b
Résultat positif pour l'antigène et la toxine

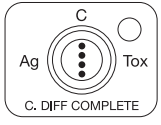


Figure 1c
Résultat négatif

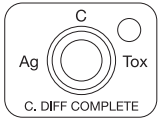


Figure 1d
Résultat nul

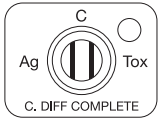


Figure 1e
Résultat nul

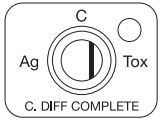


Figure 1f
Résultat nul

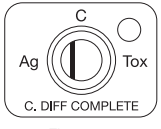


Figure 1g
Résultat nul

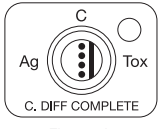


Figure 1h
Voir le point 7 pour l'interprétation

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Interne : une bande de contrôle en pointillés bleue doit être visible au centre de la *Fenêtre de réaction*, sous le « C », pour chaque *Dispositif à membrane* utilisé. L'apparition de la bande de contrôle en pointillés bleue confirme que l'échantillon et les réactifs ont été correctement ajoutés, que les réactifs étaient actifs au moment de la réalisation de l'essai et que l'échantillon a bien migré via le *Dispositif à membrane*. Il confirme la réactivité des autres réactifs associés au test. Un fond uniforme dans la zone résultat est considéré comme un contrôle interne négatif. Si le test a été réalisé correctement et les réactifs fonctionnent, le fond est blanc afin de fournir un résultat discernable.

Externe : la réactivité du kit *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® doit être contrôlée à la réception avec le *contrôle positif* et le contrôle négatif (*Diluant*). Le *Contrôle positif* est fourni avec le kit (bouteille à capsule grise). Le *Contrôle positif* permet de confirmer la réactivité des autres réactifs associés à l'essai mais il ne permet pas de garantir la précision à la limite de détection de l'essai analytique. Le *Diluant* est utilisé pour le contrôle négatif. Des tests supplémentaires peuvent être réalisés à l'aide des contrôles pour répondre aux exigences des réglementations locales, nationales et/ou fédérales et/ou des organismes d'accréditation.

LIMITES

1. Le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® est utilisé pour détecter l'antigène C. difficile et ses toxines dans des échantillons de selles. Le test confirme la présence de toxines dans les selles et ces informations doivent être examinées par le médecin avec le dossier médical du patient et l'examen physique de ce dernier. Le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® détecte les taux de toxine A ≥0,63 ng/ml, de toxine B ≥0,16 ng/ml et de glutamate déshydrogénase ≥0,8 ng/ml.
2. Les échantillons de selles sont extrêmement complexes. Le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® permet d'obtenir des résultats optimaux si les échantillons de selles ont été prélevés moins de 24 heures à l'avance. La plupart des échantillons non dilués peuvent être stockés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C pendant 72 heures avant qu'une dégradation significative de la toxine ne puisse être observée. Si les échantillons ne sont pas testés pendant cette période, ils peuvent être congelés puis décongelés. Toutefois, des congélations et décongélations répétées peuvent entraîner la perte de réactivité immunologique de l'antigène et des toxines A et B.
3. Certains échantillons peuvent entraîner des réactions faibles. Ce phénomène peut découler d'un certain nombre de facteurs tels que la présence de faibles niveaux d'antigènes ou de toxines, la présence de substances anticorps ou la désactivation des enzymes dans les selles. Les bandes peuvent présenter une couleur claire à foncée. Ces échantillons doivent être rapportés positifs si une ligne bleue ou une ligne partielle est observée. Une ligne bleue partielle évidente est interprétée comme résultat positif.
4. Les échantillons de selles conservés dans 10 % de formol, de formol thimérosal, dans du formol d'acétate de sodium ou de l'alcool polyvinylique ne peuvent pas être utilisés.
5. Le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® est un test qualitatif. L'intensité de la couleur ne doit pas être interprétée en termes quantitatifs.
6. Certains isolats du *C. sordellii* peuvent réagir lors du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® suite à la production de toxines immunologiquement associées (1).
7. Des taux d'infestation pouvant atteindre 50 % ont été signalés chez des enfants. Un niveau élevé a également été signalé chez des patients atteints de mucoviscidose (1,3). Les résultats peuvent se révéler positifs dans ces groupes mais ils doivent être considérés en association avec une infestation potentielle.
8. Le seul organisme autre que *C. difficile* ayant réagi à la bande de toxines du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® correspond au *Clostridium sordellii* VPI 9048. Cette souche produit des toxines HT et LT homologues aux toxines A et B, respectivement.
9. Aucune donnée n'est disponible sur les effets des lavages coliques, des lavements barytés, des laxatifs ou des préparations de selles sur la performance du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®. Toutes ces procédures peuvent provoquer une dilution extensive ou la présence d'adjuvants susceptibles d'affecter la performance du test.

VALEURS ATTENDUES

La maladie *Clostridium difficile* est principalement une maladie nosocomiale détectée chez les personnes âgées et la fréquence de cette maladie dépend de facteurs tels que la population des patients, le type d'institution et l'épidémiologie. Les incidences de la maladie *C. difficile* signalées chez des patients présentant des diarrhées associées aux antibiotiques sont comprises entre 5 et 20 %, les hôpitaux pouvant présenter des taux supérieurs ou inférieurs à ces chiffres. Il est important de considérer les résultats des tests en association

For Instructional Use Only

avec les symptômes cliniques car certains adultes sains et un grand nombre d'enfants sains (jusqu'à 50 %) présentent des résultats positifs à la toxine du *C. difficile*. Par ailleurs, on a pu observer des taux compris entre 22 et 32 % de *C. difficile* chez des patients atteints de mucoviscidose (1,3). Lors des études réalisées pour ce dispositif, avec des patients symptomatiques, l'incidence des toxines A et B était de 12 % et le test GDH était de 18 %. Un résultat positif dans la partie antigène du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® confirme la présence du *C. difficile* dans un échantillon de selles et un résultat négatif indique l'absence de cet organisme. Un résultat positif dans la partie toxine du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® confirme la présence de toxines de *C. difficile* dans un échantillon de selles et un résultat négatif indique l'absence de toxines ou des niveaux de toxines insuffisants pour être détectés.

EFFICACITÉ DU TEST

Évaluation clinique de la partie antigène du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

La partie antigène du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® a été comparée à une culture bactérienne. Les échantillons testés lors de cette évaluation ont été soumis aux laboratoires cliniques pour des tests de routine. Le test de culture bactérienne a été réalisé selon les procédures internes de l'établissement. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1. Résumé des performances cliniques comparant le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® à la culture bactérienne

n = 1126	Culture bactérienne Positif	Culture bactérienne Négatif
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande antigène positive	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande antigène négative	21	842

		Indice de confiance de 95 %
Sensibilité	90,5%	85,7 – 93,9
Spécificité	93,1%	91,2 – 94,7
Valeur prédictive positive	76,4%	70,7 – 81,3
Valeur prédictive négative	97,6%	96,2 – 98,4
Corrélation	92,6%	91,8 – 93,4

Les échantillons contradictoires ont été évalués en utilisant les tests ELISA actuels pour le glutamate déshydrogénase *C. difficile*.
Vingt-neuf des 62 échantillons faussement positifs se sont révélés positifs à un autre test GDH, et ont été considérés comme effectivement positifs.
Treize des 21 échantillons faussement négatifs se sont révélés négatifs à un autre test GDH, et ont été considérés comme effectivement négatifs.

La partie antigène du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® a été comparée à des cultures de tissus pour la détection de la toxine C. difficile. Les échantillons testés lors de cette évaluation ont été soumis aux laboratoires cliniques pour des tests de routine. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 2. La partie antigène du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® a détecté 98,7 % des échantillons positifs avec les cultures de tissus.

Tableau 2. Résumé des performances cliniques comparant le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® à la culture tissulaire

n = 1126	Culture tissulaire Positif	Culture tissulaire Négatif
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande antigène positive	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande antigène négative	2	861

Évaluation clinique de la partie toxines du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

La partie toxines du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® a été comparée aux cultures de tissus dans deux laboratoires cliniques et dans les locaux de TECHLAB, Inc. Les échantillons inclus dans l'évaluation ont été soumis aux tests de routine des laboratoires cliniques. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3. Résumé des performances cliniques comparant le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® à la culture tissulaire

n = 1126	Culture tissulaire Positif	Culture tissulaire Négatif
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande toxine positive	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande toxine négative	19	964

		Indice de confiance de 95 %
Sensibilité	87,8%	81,4 - 92,3
Spécificité	99,4%	98,6 - 99,7
Valeur prédictive positive	95,8%	90,7 - 98,3
Valeur prédictive négative	98,1%	96,9 - 98,8
Corrélation	97,8%	97,6 - 98,0

Les échantillons contradictoires ont été évalués avec les tests ELISA actuels pour les toxines A et B.
Cinq échantillons faussement positifs sur les 6 étaient positifs d'après le test ELISA et ont été considérés comme effectivement positifs.
Douze échantillons faussement négatifs sur les 19 étaient négatifs d'après le test ELISA et ont été considérés comme effectivement négatifs.

For Instructional Use Only

EFFET DE LA CONSISTANCE DE L'ÉCHANTILLON DE SELLES

Effet de la consistance de l'échantillon de selles sur le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

La réaction des échantillons de selles de consistances différentes dans la partie antigène (n=978) et dans la partie toxines (n=981) du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* est présentée dans les Tableaux 4 et 5. Les pourcentages de réactions positives avec la culture bactérienne ou le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* étaient similaires pour les trois types d'échantillons de selles (liquide, semi-solide et solide). Tous les échantillons ont été soumis au test C. difficile. À l'origine de cette soumission, on trouve les antécédents médicaux du patient et non la consistance des échantillons. Dans la partie antigène, les résultats montrent que le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se comporte de manière similaire à la culture bactérienne lors du test des échantillons de différentes consistances. Dans la partie toxine, les résultats montrent que le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se comporte de manière similaire aux cultures de tissus lors du test des échantillons de différentes consistances.

Tableau 4. Réaction dans la partie antigène du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* pour des échantillons de selles de consistances différentes

Nombre d'échantillons (n = 978)	Échantillons liquides (n = 335)	Échantillons semi-solides (n = 522)	Échantillons solides (n = 121)
Positif sur la culture bactérienne	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande antigène positive	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Négatif sur culture bactérienne	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande antigène négative	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tableau 5. Réaction dans la partie toxines du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* pour des échantillons de selles de consistances différentes

Nombre d'échantillons (n = 981)	Échantillons liquides (n = 336)	Échantillons semi-solides (n = 523)	Échantillons solides (n = 122)
Positif sur culture de tissus	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande toxine positive	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Négatif sur culture de tissus	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Bande toxine négative	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

Le seuil de détection de l'essai a été établi à des concentrations de 0,63 ng/ml pour la toxine A, de 0,16 ng/ml pour la toxine B et de 0,8 ng/ml pour le glutamate déshydrogénase.

REPRODUCTIBILITÉ

La reproductibilité du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* a été déterminée à partir de 12 échantillons de selles codés pour éviter leur identification pendant le test. Les tests ont été réalisés par 3 laboratoires indépendants qui ont analysé les échantillons sur 3 jours. Les échantillons ont donné les résultats prévus sur toute la durée des essais.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

Les échantillons de selles inoculés par les micro-organismes suivants, pour une concentration finale d'environ 10^8 ou supérieure d'organismes par ml, n'ont pas réagi sur les bandes de test antigène ou toxines du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* :

Bactéries ou agents pathogènes : *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (nontoxigenic)*, Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans)*, Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Le seul organisme autre que *C. difficile* ayant réagi à la bande de toxines du test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* correspond au *Clostridium sordellii* VPI 9048. Cette souche produit des toxines HT et LT homologues aux toxines A et B, respectivement.

Les virus suivants, à des TCID de $10^{3.3}$ à $10^{8.25}$ n'ont pas réagi au test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* :

Virus : adénovirus de types 1, 2, 3, 5, 40, 41, coronavirus humains, Coxsackievirus B2, B3, B4, B5, échovirus 9, 11, 18, 22, 33, entérovirus de types 68, 69, 70, 71, rotavirus.

INTERFÉRENCES ANALYTIQUES

Les substances suivantes (formulations américaines) n'ont pas modifié le résultat des tests lorsqu'elles étaient présentes dans les selles aux concentrations indiquées ci-après : mucine (3,5 % p/v), sang humain (40 % v/v), sulfate de baryum (5 % p/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), acide stérique/palmitique (40 % p/v), Métronidazole (0,25 % p/v), Vancomycine (0,25 % p/v).

RÉACTION DES ISOLATS CLINIQUES OBTENUS SUR CCFA (GÉLOSE AVEC CYCLOSÉRINE, CEFOXITINE, AMPHOTÉRICINE B)

Au total, 103 isolats cliniques de *C. difficile*, obtenus par culture bactérienne anaérobie sur CCFA au bout de 3 jours à 37 °C, ont été testés avec le test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Pour l'analyse, des colonies individuelles ont été collectées et suspendues dans le *Diluant* selon les recommandations concernant les échantillons de selles. Les 103 isolats ont donné une réaction d'antigène positive lors du test.

Soixante-dix de ces 103 isolats (68 %) étaient issus d'échantillons de selles positifs pour la toxine de *C. difficile* d'après la culture de tissus. Parmi eux, 56 (80 %) ont donné une réaction positive pour les toxines lors du dépistage après croissance anaérobie sur CCFA pendant 3 jours à 37 °C.

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

ÚČEL POUŽITÍ

Test TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* je rychlá membránová enzymová imunoanalýza pro současnou detekci antigenů glutamát dehydrogenázy a toxinů A a B *Clostridium difficile* v jediné reakční jamce. Test detekuje antigen *C. difficile*, glutamát dehydrogenázu, jako vyšetření na přítomnost *C. difficile* a potvrzuje přítomnost toxické *C. difficile* detekcí toxinů A a B ve vzorcích stolice osob s podezřením na onemocnění *C. difficile*. Test je určen k použití jako pomůcka při diagnóze onemocněním *C. difficile*. Stejně jako u ostatních testů *C. difficile* je výsledky třeba zvažovat ve spojení s anamnézou pacienta.

VYSVĚTLENÍ

Po léčbě antibiotiky se u mnoha pacientů rozvinou gastrointestinální problémy v rozsahu od mírného průjmu po vážnou pseudomembránovou kolitidu. Mnoho případů mírnějších forem gastrointestinálního onemocnění a většina případů pseudomembránové kolitidy je způsobena toxigenními kmeny *Clostridium difficile* (1). Tento organismus je oportunistická anaerobní bakterie, která roste ve střevech, když je normální flora pozměněna účinky antibiotik. Toxigenní kmeny *C. difficile* přenášejí geny kódující toxiny, zatímco netoxigenní kmeny nikoli. Nástup nemoci je spojen s toxiny, které jsou produkovány toxigenními organizmy. Klinické příznaky spojené s touto nemocí jsou přičítány především toxinu A, který patří do skupiny enterotoxinů poškozujících tkáň (2,3). *C. difficile* rovněž produkuje druhý toxin, označovaný jako toxin B. Toxin B, který byl označován jako cytotoxin je toxin detekovaný analýzou tkáňové kultury používanou v mnoha laboratořích. Toxigenní kmeny *C. difficile* produkují oba toxiny nebo pouze toxin B (4-7). Glutamátdehydrogenáza *C. difficile* je dobrým antigenovým markerem organizmu ve stolici, protože je produkována ve vysokých množstvích všemi kmeny, toxigenními i netoxigenními (8-10). Antigen je možné detekovat ve vzorcích stolice testem *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Pozitivní výsledek testu na glutamát dehydrogenázu *C. difficile* potvrzuje přítomnost tohoto organismu ve vzorku stolice; negativní výsledek indikuje jeho nepřítomnost. Pozitivní výsledek testu na toxiny A a B potvrzuje přítomnost toxigenního kmene *C. difficile*.

PRINCIP TESTU

Test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* využívá protilátky specifické pro glutamát dehydrogenázu a toxiny A a B bakterie*C. difficile*. Prostředek obsahuje reakční štěrbinu se třemi svislými linkami imobilizovaných protilátek. Testovací linka antigenu („Ag“) obsahuje protilátky proti glutamát dehydrogenáze *C. difficile*. Kontrolní linka („C“) je tečkována čára, která obsahuje protilátky proti peroxidáze z křenu (HRP). Testovací linka A a B („Tox“) obsahuje protilátky proti toxinům A a B bakterie *C. difficile*. *Konjugát* tvoří protilátky ke glutamát dehydrogenáze a protilátky k toxinům A a B spojené s peroxidázou z křenu. K provedení testu se vzorek přidá do zkumavky obsahující směs *ředicího roztoku* a *konjugátu*. Směs zředěného vzorku a konjugátu se přidá do *vzorkovací jamky* a prostředek se nechá inkubovat 15 minut při pokojové teplotě. Během inkubace se přítomný glutamát dehydrogenáza a toxiny A a B ve vzorku vážou na konjugát protilátky a peroxidázou. Komplexy antigen-protilátka-konjugát migrují filtrační podložkou k membráně, kde jsou zachyceny imobilizovanými protilátkami proti glutamát dehydrogenáze a toxinům A a B v linkách. *Reakční štěrbina* je následně propláchnuta *promývacím tlumivým roztokem* a poté se přidá *substrát*. Po 10minutovém inkubačním období se vizuálně zkontroluje „Ag“ reakce, zda se objeví svislá modrá linka na straně „Ag“ *reakční štěrbiny*. Modrá linka indikuje pozitivní test. Pokud je „Ag“ pozitivní, vizuálně se zkontroluje „Tox“ reakce, zda se objeví modrá linka na straně „Tox“ *reakční štěrbiny*. Modrá linka indikuje pozitivní test. Pozitivní reakce „C“, indikovaná svislou tečkovanou čárou pod částí „C“ *reakční štěrbiny*, potvrzuje, že test fungoval správně a výsledky jsou validní.

DODÁVANÝ MATERIÁL

MEM | DEV — ***Membránové prostředky*** – každé balení obsahuje 1 prostředek

DIL | SPE — ***Ředicí roztok* (22 ml na lahvičku)** – tlumený roztok bílkovin s kapátkem se stupnicí (obsahuje 0,05% ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Promývací tlumivý roztok* (12 ml na lahvičku)** – tlumicí roztok s kapátkem se stupnicí (obsahuje 0,05% ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Substrát* (3,5 ml na lahvičku)**– roztok obsahuje tetramethylbenzidin

CONJ | ENZ — ***Konjugát* (2,5 ml na lahvičku)** – protilátka specifická na glutamát dehydrogenázu spojená s peroxidázou z křenu a protilátkami specifickými na toxiny A a B spojenými s peroxidázou z křenu v tlumeném roztoku bílkovin (obsahuje 0,05% ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Pozitivní kontrola* (2 ml)** – antigen v tlumeném roztoku bílkovin

Jednorázové plastové přenosové pipety – s rysem 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL a 500 µL.

IVD — Pro diagnostické použití *in vitro*

*Signální slovo: Varování
H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci.
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

POŽADOVANÝ MATERIÁL A VYBAVENÍ, KTERÉ NENÍ DODÁVANÉ

Malé vyšetřovací zkumavky (např. plastové zkumavky mikroodstředivky nebo skleněné zkumavky)
Proužky aplikátoru — *Časovač* — *Vortex*
Jednorázové rukavice pro manipulaci se vzorky stolice — *Pipetovací automat a špičky*

SKLADOVATELNOST A SKLADOVÁNÍ

Datum exspirace soupravy je uvedeno na štítku. Datum exspirace každé součásti je uvedeno na jednotlivých štítcích. Soupravu skladujte v rozmezí 2 až 8 °C.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Pro diagnostické použití *in vitro*. Pouze pro odborné použití.
2. Reagencie z různých souprav se nesmějí směšovat nebo zaměňovat. Nepoužívejte soupravu po datu expirace.
3. Každý součást soupravy by měla být zkontrolována, zda je těsná. Po přijetí zkontrolujte soupravu, abyste ověřili, že jednotlivé součásti nejsou zmrzlé nebo teple na dotek v důsledku nevhodných přepravních podmínek.
4. PŘED POUŽITÍM NECHTE všechny složky ohřát NA POKOJOVOU TEPLOTU.
5. Víčka, špičky a kapátko jsou barevně označeny; nesměšujte je ani nezaměňujte!
6. Nepoužívejte zmražené reagencie. Soupravu skladujte v rozmezí 2 až 8 °C.
7. Balení obsahující *membránový prostředek* by mělo mít před otevřením pokojovou teplotu. Před

For Instructional Use Only

použitím udržujte membránový prostředek suchý.

8. Vzorky stolice použijte během 72 hodin od odběru, abyste získali optimální výsledky. Vzorky, které jsou zmrazené mohou ztratit aktivitu v důsledku zmrazení a rozmrazení. Zmrazené vzorky rozmrazujte při pokojové teplotě.
9. Podržte lahvičky reagencií svisle pro dávkování reagencií a zajištění konzistentní velikosti kapky a správného objemu.
10. Se vzorky a membránovým prostředkem je třeba nakládat a likvidovat jako možné biologické nebezpečí.
11. Membránový prostředek nelze používat opakovaně.
12. Test byl optimalizován na citlivost: a specificitu. Změny ve specifikovaném postupu nebo podmínkách testu mohou ovlivnit citlivost a specificitu testu. Neodchylujte se od specifikovaného postupu.
13. Buďte pozorní k celkové době analýzy při testování více než jednoho vzorku stolice. Nejprve přidejte *ředicí roztok* a potom přidejte *konjugát* do každé zkumavky s *ředicím roztokem*. Potom přidejte vzorek do zkumavky s *ředicím roztokem*/*konjugátem*. Důkladně promíchejte zředěné vzorky a přeneste je do *membránových prostředků*. Krok 15minutové inkubace začíná po přenesení poslední směsi zředěného vzorku a konjugátu do posledního *membránového prostředku*.
14. Pokud se *substrát* změní na tmavě modrou /fialovou barvu, zavolejte technické služby a požádejte o výměnu.
15. Vzorky stolice mohou obsahovat možné infekční složky a je s nimi třeba zacházet v souladu s úrovní Biosafety Level 2, která se doporučuje pro jakékoliv potenciálně infekční vzorky lidského séra nebo krve v manuálu CDC/NIH (Centra pro kontrolu nemocí/Národního zdravotnického institutu) „Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicínských laboratořích“.
16. Při provádění testu noste jednorázové rukavice.
17. Reagencie *Conjugate*, *Diluent*, (konjugované ředidlo) a *Wash Buffe*r (promývací pufr) obsazují 0,05% ProClin® 300 jako konzervační prostředek.I když je koncentrace nízká, je známo, že ProClin® 300 je škodlivý (může dojít k senzibilizaci pokožky).Pokud dojde k senzibilizaci / podráždění pokožky nebo vyrážce, vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření.Kontaminovaný oděv svlékněte a před dalším použitím vyperte.S reagenciemi zacházejte v souladu s platnými předpisy pro bezpečnost a správnou laboratorní praxi.Bezpečnostní listy tohoto produktu jsou k dispozici na vyžádání, kontaktujte technickou podporu.
18. Řiďte se vašimi národními, regionálními a místními předpisy pro likvidaci odpadu.

ODBĚR VZORKŮ STOLICE, MANIPULACE SE VZORKY A JEJICH SKLADOVÁNÍ

Přijatelné typy vzorků
Čerstvé vzorky stolice
Zmrazené vzorky stolice
Vzorky v transportních médiích (Cary Blair, C&S)

Nepoužívat
Vzorky stolice ve formalinovém fixačním přípravku (např. formalin acetát sodný, 10% formalin, merthiolát formalin)
Vzorky stolice v alkoholovém fixačním přípravku (např. polyvinylalkohol)

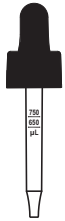
Skladování vzorků Teplota	Přijatelná doba skladování	Poznámky
2–8 °C	72 hodin	Ideální vzorky jsou mně než 24 hodin staré
Zmrazený ≤ -10 °C	Déle než 72 hodin	Rozmrazujte při pokojové teplotě. Opakované zmrazení a rozmrazení vzorků může vést ke ztrátě aktivity vzorku v důsledku degradace toxinů.

1. Standardní odběr a manipulace používané interně pro vzorky stolice jsou vhodné.
2. Vzorky stolice je třeba odebírat v čistých, nepropustných nádobách.
3. Skladování vzorků stolice v *ředicím roztoku* se nedoporučuje.
4. Nenechávejte vzorky stolice ve směsi ředicí *roztok/konjugát* > 24 hodin.

PŘÍPRAVA VZORKU

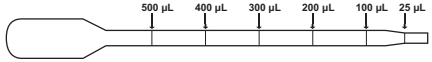
1. Před použitím nechte všechny reagencie a požadovaný počet prostředků ohřát na pokojovou teplotu. Doporučuje se odstranit reagencie z pěnové vložky, aby se snížila doba potřebná k zahřátí na pokojovou teplotu.
2. Připravte a označte jednu malou testovací zkumavku pro každý vzorek a volitelné externí kontroly podle potřeby.
3. Pomocí černého kapátka se stupnicí přidejte 750 µl (2. ryska od špičky) ředicího *roztoku* do každé zkumavky na vzorky stolice. **Pro vzorky v transportním médiu, například Cary Blair nebo C&S, přidejte do zkumavky 650 µl (1. ryska od špičky) *ředicího roztoku*.**

Typ vzorku	Objem ředicího *roztoku*
Čerstvé vzorky stolice	750 µl (2. značka od špičky)
Zmrazené vzorky stolice (zmražené neředěné)	750 µl (2. značka od špičky)
Vzorky v transportních médiích (Cary Blair, C&S)	650 µl (1. ryska od špičky)
Externí kontroly (pozitivní a negativní)	750 µl (2. značka od špičky)



4. Přidejte jednu kapku *konjugátu* (lahvička s červeným víčkem) do každé zkumavky.
5. Použijte jednu jednorázovou pipetu (obsažené v sadě) na každý vzorek – pipety mají rysky 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL a 500 µL.

Transferová pipeta se stupnicí:



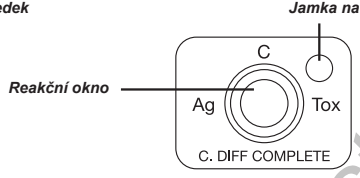
For Instructional Use Only

6. **Důkladně promíchejte všechny vzorky bez ohledu na konzistenci - je nezbytné, aby byly vzorky před přenosem rovnoměrně suspendovány.**
   Tekuté/polotuhé vzorky – pipetujte 25 µl vzorku přenosovou pipetou a nadávkujte do směsi *ředicí roztok/konjugát*. Stejnou přenosovou pipetou zamíchejte zředěný vzorek.
   Formované/tuhé vzorky – je třeba dávat pozor, aby bylo do směsi vzorku přidáno správné množství fekálií. Zamíchejte důkladně vzorek dřevěnou tyčkou aplikátoru a přeneste malou část (přibližně 2 mm v průměru, ekvivalent 25 µl) vzorku do směsi ředicí roztok/konjugát. Vzorek převeďte na emulzi aplikační tyčinkou.
   Vzorky stolice v transportních médiích Cary Blair nebo C&S - pipetujte 100 µl (2. stupeň od hrotu přenosové pipety) vzorku do směsi *ředicí roztok/konjugát*.
7. **Volitelné externí kontrolní vzorky:**
   Externí pozitivní kontrola - přidejte jednu kapku *pozitivní kontroly* (lahvička s šedým víčkem) do směsi *ředicí roztok/konjugát*.
   Externí negativní kontrola - přidejte 25 µl *ředicího vzorku* do směsi *ředicí roztok/konjugát*.

POZNÁMKA: Přenesení příliš malého množství vzorku nebo nedostatečné smíšení či suspendování vzorku ve směsi ředicí roztok/konjugát může vést k falešně negativním výsledkům testu. Přidání přílišného množství vzorku stolice může způsobit neplatné výsledky z důvodu omezeného toku vzorku.

ZKUŠEBNÍ POSTUP

1. Použijte jeden *membránový prostředek* na vzorek a jeden prostředek na volitelnou externí pozitivní nebo negativní kontrolu podle potřeby. Foliové balení obsahující prostředky by mělo mít před otevřením pokojovou teplotu. Použijte zařízení ihned po otevření. Vhodně označte každý prostředek a orientujte jej na rovném povrchu tak, aby text „C. DIFF COMPLETE“ byl na spodní straně zařízení a malá vzorkovací jamka byla v horním pravím rohu prostředku.



2. Zavřete každou zkumavku zředěného vzorku a důkladně zamíchejte. Správné promíchání lze dosáhnout na vortexu nebo převrácením zkumavky. Jakmile dojde ke zředění *pozitivní kontroly* ve směsi *ředicí roztok/konjugát*, může se inkubovat při pokojové teplotě jakoukoli dobu až 24 hodin před jeho nanesením do *membránového prostředku*.
3. Novou přenosovou pipetou přeneste 500 µl směsi zředěného vzorku a konjugátu do ***vzorkovací jamky*** (malý otvor v horním pravém rohu) *membránového zařízení* a ujistěte se, že došlo k vytlačení tekutého vzorku na kapilární podložku uvnitř *membránového zařízení*. Při vložení vzorku do vzorkovací jamky se ujistěte, že špička přenosové pipety je skloněna v úhlu směrem k *reakční štěrbině* (větší otvor uprostřed prostředku).
4. Inkubujte prostředek při pokojové teplotě 15 minut – vzorek prosákne prostředkem a vlhká oblast se rozšíří napříč *reakční štěrbiny*.

POZNÁMKA KE VZORKŮM, U NICHŽ NEDOJDE K MIGRACI:
Příležitostně nemusí dojít ke správné migraci zředěného vzorku a reakční štěrbina není plně vlhká. Pokud nedojde během 5 minut k úplnému navlhčení reakční štěrbiny od přidání vzorku do vzorkovací jamky, přidejte 100 µl (4 kapky) ředicího roztoku do vzorkovací jamky a počkejte dalších 5 minut (celkem 20 minut).

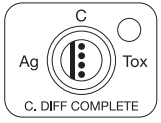
5. Po inkubaci přidejte 300 µl *promývacího tlumivého roztoku* do ***reakční štěrbiny*** pomocí bílého kapátka se stupnicí. Nechte *promývací tlumivý roztok* protéci membránou reakční štěrbiny a počkejte na úplnou absorpci.
6. Přidejte 2 kapky *substrátu* (lahvička s bílým víčkem) do ***reakční štěrbiny***. Odečtěte a zaznamenejte výsledky vizuálně po 10 minutách

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

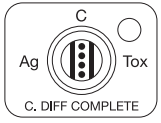
1. Interpretace testu je nejspolehlivější, když je prostředek odečten ihned na konci 10minutové reakční doby. Odečítejte prostředek z normální pracovní vzdálenosti na dobře osvětleném místě. Pozorujte přímo kolmo nad prostředkem.
2. Pozorujte prostředek, zda se objeví modré tečky uprostřed *reakční štěrbiny*, což představuje interní pozitivní kontrolu. Výskyt jakékoli kontrolní tečky (teček) představuje validní interní kontrolu. Pozadí se může jevit bílé až světle modré. Pozorujte prostředek, zda se objeví modré linky na stranách „Ag“ a „Tox“ *reakční štěrbiny*, což představuje linky testu. Linky mohou být slabé až tmavé intenzity.
3. **Pozitivní antigenový („Ag“) výsledek:** Pozitivní výsledek antigenu může být interpretován kdykoli mezi přidáním *substrátu* a uplynutím 10 minut na odečet. Pro pozitivní výsledek antigenu jsou viditelné modrá „Ag“ linka a tečkovaná modrá kontrolní linka pod „C“ (obrázek 1a). Linky mohou být slabé až tmavé intenzity. Zjevně částečná linka je interpretována jako pozitivní výsledek. Odbarvení membrány nelze interpretovat jako pozitivní výsledek. Pozitivní výsledek výsledek indikuje přítomnost *C. difficile*.
4. **Positivní antigenový a toxinový („Tox“) výsledek** Pokud je výsledek antigenu pozitivní (tj. jsou vidět modrá linka „Ag“ a modrá tečkovaná linka pod „C“), pokračujte v interpretaci výsledku toxinu. Pozitivní výsledek toxinu může být interpretován kdykoli mezi přidáním *substrátu* a uplynutím 10 minut na odečet. V případě pozitivního výsledku toxinu je vidět modrá linka „Tox“ (obrázek 1b). Linka může být slabé až tmavé intenzity. Zjevně částečná linka je interpretována jako pozitivní výsledek. Odbarvení membrány nelze interpretovat jako pozitivní výsledek. Pozitivní výsledek výsledek indikuje přítomnost toxinu *C. difficile*.
5. **Negativní výsledek:** Test nemůže být interpretován jako negativní nebo neplatný, dokud neuplyne 10 minut po přidání *substrátu*. Jedna modrá tečkovaná linka je viditelná uprostřed *reakční štěrbiny* pod „C“ a žádné linky testu nejsou na straně „Ag“ ani „Tox“ *reakční štěrbiny* (obrázek 1c). Negativní výsledek v části antigenu indikuje, že antigen *C. difficile* není ve vzorku přítomný nebo je pod mezí detekce testu. Negativní výsledek v části toxinu indikuje, že toxin *C. difficile* není ve vzorku přítomný nebo je pod mezí detekce testu.
6. **Neplatný výsledek:** V reakční štěrbině nejsou vidět žádné linky (obrázek 1d). Výsledek testu je neplatný, pokud pod „C“ není přítomná modrá tečkovaná linka po uplynutí reakční doby (obrázky 1e, 1f, 1g).
7. **Negativní na antigen („Ag“), pozitivní na toxin („Tox“):** Nízké procento vzorků může být testováno negativní na antigen, ale pozitivní na toxin. Tyto vzorky je třeba považovat za neurčité a opakovaně otestovat s novým vzorkem (obrázek 1h). Pokud při opakovaném testu je vzorek negativní na antigen, ale pozitivní na toxin, vykažte pozitivní výsledek toxinu.

For Instructional Use Only

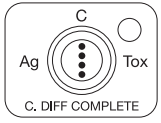
OBRÁZEK 1: INTERPRETACE VÝSLEDKŮ *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*



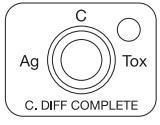
Obrázek 1a
Pozitivní antigenový výsledek



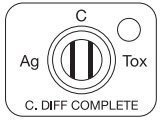
Obrázek 1b
Positivní antigenový a toxinový výsledek



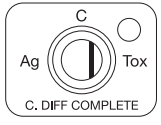
Obrázek 1c
Negativní výsledek



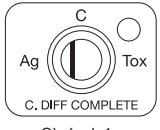
Obrázek 1d
Neplatný výsledek



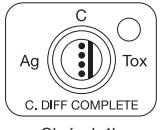
Obrázek 1e
Neplatný výsledek



Obrázek 1f
Neplatný výsledek



Obrázek 1g
Neplatný výsledek



Obrázek 1h
Viz 7 pro interpretaci

KONTROLA KVALITY

Interní: Ve střední části *reakční štěrbiny* musí být viditelná tečkovaná modrá linka pod „C“ na každém *membránovém prostředku* použitím k testu. Objevení modrých kontrolních teček potvrzuje, že byly vzorek a reagencie přidány správně, že jsou reagencie aktivní v době provedení testu a že vzorek správně migroval přes *membránový prostředek*. Rovněž potvrzuje reaktivitu dalších reagencií spojených s analýzou. Rovnoměrné pozadí v oblasti výsledku et považováno za interní negativní kontrolu. Pokud je test proveden správně a reagencie fungují správně, pozadí bude bílé, což umožní získat jednoznačný výsledek.

Externí: Reaktivitu sady *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* je třeba ověřit po přijetí pomocí *pozitivní kontroly* a negativní kontroly (*ředicí roztok*). *Pozitivní kontrola* se dodává se soupravou (lahvička s šedým víčkem). *Pozitivní kontrola* potvrzuje reaktivitu dalších reagencií spojených s analýzou a není určena pro zajištění přesnosti analytické meze stanovení. *Ředicí roztok* se používá jako negativní kontrola. Další testy se mohou provádět s kontrolami ke splnění požadavků místních nebo národních předpisů a požadavků akreditačních organizací.

OMEZENÍ

1. Test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se používá pro detekci antigenu a toxinů *C. difficile* ve vzorcích stolice. Test potvrzuje přítomnost toxinu ve stolici a tato informace by měla být zvážena lékařem ve světle klinické anamnézy a fyzického vyšetření pacienta. Test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* zjišťuje úrovně toxinu A při ≥ 0,63 ng/ml, toxin B při ≥ 0,16 ng/ml a glutamát dehydrogenázu při ≥ 0,8 ng/ml.
2. Vzorky stolice jsou extrémně složité. Optimální výsledky testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se získají se vzorky, které jsou méně než 24 hodin staré. Většinu neředěných vzorků je možné skladovat mezi 2 °C a 8 °C po dobu 72 hodin bez významné degradace toxinů. Pokud nejsou vzorky analyzovány během tohoto období, mohou být zmrazeny a rozmrazeny. Opakované zmrazování a rozmrazování však může vést ke ztrátě imunoreaktivity antigenu a toxinů A a B.
3. Některé vzorky mohou poskytnout slabou reakci. Příčinou může být řada různých faktorů, například přítomnost nízkých koncentrací antigenu nebo toxinu, přítomnost vázajících látek nebo inaktivující enzymy ve stolici. Linky mohou být slabé až tmavé intenzity. Tyto vzorky by měly být vykázány jako pozitivní, pokud je pozorovány jakákoli modrá linka, dokonce i jen částečná. Zjevně částečná modrá linka je interpretována jako pozitivní výsledek.
4. Vzorky stolice konzervované v 10% formalinu, merthiolát formalinu, formalin acetát sodném nebo polyvinylalkoholu nelze používat.
5. Test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* je kvalitativní. Intenzitu barvy nelze posuzovat kvantitativně.
6. Některé izoláty *C. sordellii* mohou reagovat v testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* z důvodu produkce imunologicky příbuzných toxinů (1).
7. U malých dětí byly hlášeny rychlosti kolonizace až do 50 %. Vysoká rychlost byla také hlášena u pacientů s cystickou fibrózou (1,3). U těchto skupin se mohou vyskytnout pozitivní výsledky, ale musí se na ně nahlížet ve spojení s možností být kolonizovaný přenašeč.
8. Jediný organismus jiný než *C. difficile*, který reagoval v toxinové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* byl *Clostridium sordellii* VPI 9048. Tento kmen produkuje toxiny HT a LT, které jsou homology toxinů A a B.
9. Nejsou k dispozici žádná data o účincích střevních proplachů, bariových klystýrů, projímadel nebo střevních přípravků na funkci testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Všechny tyto postupy mohou vést ke značnému zředění nebo přítomnosti přídavných látek, která mohou ovlivnit výkon testu.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Onemocnění způsobené *Clostridium difficile* je hlavně nozokomiální onemocnění starších pacientů a četnost onemocnění závisí na faktorech jako je populace pacientů, typ instituce a epidemiologie. Hlášený výskyt onemocnění způsobených *C. difficile* u pacientů s průjmem spojeným s léčbou antibiotiky může být v rozmezí 5 až 20 % a nemocnice mohou mít zkušenosti s nižším nebo vyšším rozsahem. Je důležité zvážit výsledky testu ve spojení s klinickými symptomy, protože zdraví dospělí a velký počet zdravých malých dětí (až 50 %) bude pozitivní na toxin *C. difficile*. Kromě toho byla také u pacientů s cystickou fibrózou hlášena míra přenosu *C. difficile* 22 % až 32 % (1,3). Ve studiích prováděných na tomto zařízení pomocí symptomatických pacientů byla incidence toxinů A a B12 % a GDH 18 %. Pozitivní výsledek antigenové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* potvrzuje přítomnost *C. difficile* ve vzorku stolice; negativní výsledek indikuje nepřítomnost organismu. Pozitivní výsledek toxinové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* potvrzuje přítomnost toxinu *C. difficile* ve vzorku stolice; negativní výsledek indikuje nepřítomnost toxinu nebo nedostatečné množství toxinu pro detekci.

For instructional use only

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Klinické hodnocení antigenové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

Antigenová část testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® byla srovnána s bakteriální kultivací. Vzorky zahrnuté v hodnocení byly odeslány do klinické laboratoře k běžnému testování. Test bakteriální kultury byl prováděn podle interních postupů. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1. Souhrn klinického výkonu srovnávající test C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® s bakteriální kultivací

n = 1126	Bakteriální kultura Pozitivní	Bakteriální kultura Negativní
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linka antigenu, pozitivní	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linka antigenu, negativní	21	842

		95% interval spolehlivosti
Citlivost	90,5 %	85,7–93,9
Specificita	93,1 %	91,2–94,7
Pozitivní predikční hodnota	76,4 %	70,7–81,3
Negativní predikční hodnota	97,6 %	96,2–98,4
Korelace	92,6 %	91,8–93,4

Diskrepantní vzorky byly hodnoceny stávajícími testy ELISA na glutamátdehydrogenázu *C. difficile*.
Dvacet devět z 62 falešně pozitivních vzorků bylo pozitivních v dalším GDH testu a byly posouzeny jako skutečně pozitivní.
Třináct z 21 falešně negativních vzorků bylo negativních v dalším GDH testu a byly posouzeny jako skutečně negativní.

Antigenová část testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® byla srovnána analýzou tkáňové kultury k detekci toxinu C. difficile. Vzorky zahrnuté v hodnocení byly odeslány do klinické laboratoře k běžnému testování. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2. Antigenová část testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® detekovala 98,7 % vzorků pozitivně určených tkáňovou kulturou.

Tabulka 2. Souhrn klinického výkonu srovnávající test C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® s analýzou tkáňové kultury.

n = 1126	Tkáňová kultura Pozitivní	Tkáňová kultura Negativní
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linka antigenu, pozitivní	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linka antigenu, negativní	2	861

Klinické hodnocení toxinové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

Toxinová část textu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® byla srovnána a analýzou tkáňové kultury ve dvou klinických laboratořích a interně ve společnosti TECHLAB, Inc. Vzorky zahrnuté v hodnocení byly odeslány do klinické laboratoře k běžnému testování. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3. Souhrn klinického výkonu srovnávající test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® s analýzou tkáňové kultury.

n = 1126	Tkáňová kultura Pozitivní	Tkáňová kultura Negativní
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Pozitivní linka toxinu	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Negativní linka toxinu	19	964

		95% interval spolehlivosti
Citlivost	87,8 %	81,4–92,3
Specificita	99,4 %	98,6–99,7
Pozitivní predikční hodnota	95,8 %	90,7–98,3
Negativní predikční hodnota	98,1 %	96,9–98,8
Korelace	97,8 %	97,6–98,0

Diskrepantní vzorky byly hodnoceny stávajícími testy ELISA na toxiny A a B.
Pět ze 6 falešně pozitivních vzorků bylo pozitivních v ELISA testu a byly posouzeny jako skutečně pozitivní.
Dvanáct z 19 falešně negativních vzorků bylo negativních ELISA testem a byly posouzeny jako skutečně negativní.

For Instructional Use Only

VLIV KONZISTENCE VZORKU STOLICE

Účinky konzistence vzorků stolice na test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Reakce vzorků stolice různých konzistencí v části antigenu (n = 978) a části toxinů (n = 981) v testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* je znázorněna v tabulce 4 a 5. Procenta pozitivních reakcí za využití buď analýzy kultury, nebo testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* byla podobná ve všech třech vzorcích stolice (kapalné, polotuhé a tuhé). Všechny vzorky byly odeslány na test na *C. difficile*. Základem odeslání byla klinická anamnéza pacienta a nikoli konzistence vzorku. V antigenové části výsledky ukázaly, že test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* má podobné výsledky s bakteriální kulturou, pokud mají testované vzorky různou konzistenci. V toxinové části výsledky ukázaly, že test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* má podobné výsledky s analýzou tkáňové kultury, pokud mají testované vzorky různou konzistenci.

Tabulka 4. Reakce vzorků stolice různé konzistence v antigenové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Počet vzorků (n = 978)	Kapalné vzorky (n = 335)	Polotuhý Vzorky (n = 522)	Pevné vzorky (n = 121)
Pozitivní bakteriální kultivací	59 (17,6 %)	110 (21,1 %)	19 (15,7 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linka antigenu, pozitivní	72 (21,5 %)	128 (24,5 %)	25 (20,7 %)
Negativní bakteriální kultivací	276 (82,4 %)	412 (78,9 %)	102 (84,3 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linka antigenu, negativní	263 (78,5 %)	394 (75,5 %)	96 (79,3 %)

Tabulka 5. Reakce vzorků stolice různé konzistence v toxinové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Počet vzorků (n = 981)	Kapalné vzorky (n = 336)	Polotuhý Vzorky (n = 523)	Pevné vzorky (n = 122)
Pozitivní tkáňovou kultivací	43 (12,8 %)	81 (15,5 %)	8 (6,6 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Pozitivní linka toxinu	42 (12,5 %)	72 (13,8 %)	7 (5,7 %)
Negativní tkáňovou kultivací	293 (87,2 %)	442 (84,5 %)	114 (93,4 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Negativní linka toxinu	294 (87,5 %)	451 (86,2 %)	115 (94,3 %)

ANALYTICKÁ CITLIVOST

Mezní hodnota testu byla stanovena při koncentracích 0,63 ng/ml pro toxin A, 0,16 ng/ml pro toxin B a 0,8 ng/ml pro glutamátdehydrogenázu.

REPRODUKOVATELNOST

Reprodukovatelnost testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* byla určena pomocí 12 vzorků stolice, které byly zakódovány, aby se zabránila jejich identifikace během testování. Analýzy byly prováděny 3 nezávislými laboratořemi, každý vzorek byl kultivován 3 dny. Vzorky dosáhly případů očekávaných výsledků ve 100 %.

KŘÍŽOVÁ REAKTIVITA

Vzorky stolice inokulované následujícími mikroorganismy na konečnou koncentraci přibližně 10^8 nebo více organismů na ml nereagovaly v antigenové ani toxinové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Bakterie nebo patogen: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (netoxikogenní), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Jediný organismus jiný než *C. difficile*, který reagoval v toxinové části testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* byl *Clostridium sordellii* VPI 9048. Tento kmen produkuje toxiny HT a LT, které jsou homology toxinů A a B.

Následující viry o velikosti $10^{3,3}$ až $10^{8,25}$ jednotek TCID na 0,2 ml, nereagovaly v testu *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Viry: Adenovirus typy 1, 2, 3, 5, 40, 41, lidský koronavirus, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, echovirus 9, 11, 18, 22, 33, enterovirus typ 68, 69, 70, 71, rotavirus.

INTERFERUJÍCÍ LÁTKY

Následující látky (složení USA) neměly žádný vliv na výsledky testu, pokud byly ve stolici obsaženy v uvedených koncentracích: mucin (3,5 % hm.), lidská krev (40 % obj.), síran barnatý (5 % hm.), Imodium® (5 % obj.), Kaopectate ® (5 % obj.), Pepto-Bismol ® (5 % obj.), stearová/palmitová kyselina (40 % hm.), metronidazol (0,25 % hm.), vankomycin (0,25 %.hm.).

REAKCE NA KLINICKÉ IZOLÁTY ZÍSKANÉ NA CYKLOSERIN-CEFOITIN-FRUKTOZOVÉM AGARU (CCFA)

Celkem 103 klinických izolátů *C. difficile*, získaných z anaerobní bakteriální kultury na CCFA po 3 dnech při 37 °C, bylo testováno testem C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®. Pro tuto analýzu byly odebrány jednotlivé kolonie a rozmíchány v ředicím roztoku, jak je doporučeno pro vzorky stolice. Všech 103 izolátů vedlo k pozitivní reakci v testu.

Sedmdesát ze 103 izolátů (68 %) bylo z vzorků stolice, které byly pozitivní na toxin *C. difficile* analýzou tkáňové kultury. Z nich dalo 56 (80 %) pozitivní reakci na toxin při vyšetřování následného anaerobního růstu na CCFA po 3 dny při 37 °C.

For Instruction Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

TILSIGTET ANVENDELSE

Testen TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* er en hurtig membran-enzym-immunassay til samtidig påvisning af *Clostridium difficile*-antigenet glutamatdehydrogenase samt toksin A og B i en enkelt reaktionsbrønd. Testen påviser *C. difficile*-antigenet glutamatdehydrogenase som en screening for forekomst af *C. difficile* og bekræfter forekomst af toksigen *C. difficile* ved at påvise toksin A og B i fæcesprøver fra personer, der mistænkes for at have *C. difficile*-sygdom. Testen skal anvendes som en hjælp ved diagnosticering af *C. difficile*-sygdom. Som ved andre *C. difficile*-test skal resultaterne betragtes i sammenhæng med patientens sygehistorie.

FORKLARING

Efter behandling med antibiotika udvikler mange patienter gastrointestinale problemer spændende fra mild diare til svær pseudomembranøs kolit. Mange tilfælde af de mildere former for gastrointestinal sygdom og de fleste tilfælde af pseudomembranøs kolit skyldes toksigene stammer af *Clostridium difficile* (1). Denne organisme er en opportunistisk anaerob bakterie, som vokser i tarmen, når den normale flora er blevet ændret af antibiotika. Toksigene stammer af *C. difficile* bærer generne, der koder for toksinerne, mens ikke-toksigene stammer ikke bærer toksingenerne. Sygdomsdebut er associeret med toksinerne, som produceres af den toksigene organisme. De kliniske symptomer, der er forbundet med sygdommen, menes primært at skyldes toksin A, som er et vævsbeskadigende enterotoksin (2,3).
C. difficile producerer desuden endnu et toksin, der benævnes toksin B. Toksin B, der er blevet omtalt som organismens cytotoksin, er det toksin, der påvises ved hjælp af den vævsdyrkningsassay, der for tiden anvendes af mange laboratorier. Toksigene *C. difficile*-stammer producerer begge toksiner eller kun toksin B (4-7). Glutamatdehydrogenasen fra *C. difficile* er en god antigenmarkør for organismen i fæces, fordi den produceres i store mængder af alle stammer, toksigene såvel som ikke-toksigene (8-10). Antigenet kan påvises i fæcesprøver ved hjælp af testen *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Et positivt resultat ved testen for glutamatdehydrogenase fra *C. difficile* bekræfter forekomst af denne organisme i fæcesprøver; et negativt resultat indikerer fravær af organismen. Et positivt resultat ved testen for toksin A og B bekræfter forekomst af toksigen *C. difficile*.

TESTPRINCIP

Testen *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* bruger antistoffer, der er specifikke for glutamatdehydrogenase og toksin A og B fra *C. difficile*. Enheden indeholder et reaktionsvindue med tre lodrette linjer af immobiliserede antistoffer. Antigentestlinjen (”Ag”) indeholder antistoffer mod *C. difficile*-glutamatdehydrogenase. Kontrollinjen (”C”) er en punkteret linje, som indeholder peberrodsperoxidase-antistoffer (HRP-antistoffer). Testlinjen for toksinerne A og B (”Tox”) indeholder antistoffer mod *C. difficile*-toksinerne A og B. *Konjugatet* består af antistoffer over for glutamatdehydrogenase og antistoffer over for toksin A og B koblet til peberrodsperoxidase. For at udføre testen tilsættes prøven til et glas indeholdende en blanding af *diluent* og *konjugat*. Den fortyndede blanding af prøve og konjugat tilsættes *prøvebrønden,* og enheden får lov til at inkubere ved rumtemperatur i 15 minutter. Under inkubationen binder eventuel glutamatdehydrogenase og toksin A og B i prøven sig til antistof-peroxidase-konjugaterne. Antigen-antistof-konjugatkomplekserne migrerer igennem en filterpude til en membran, hvor de opfanges af de immobiliserede glutamatdehydrogenase-specifikke og toksin A- og B-specifikke antistoffer i linjerne. *Reaktionsvinduet* vaskes efterfølgende med *vaskebuffer* efterfulgt af tilsætning af *substrat*. Efter en inkubationsperiode på 10 minutter undersøges ”Ag”-reaktionen visuelt for fremkomst af en lodret blå linje på ”Ag”-siden af *reaktionsvinduet*. En blå linje indikerer en positiv test. Hvis ”Ag” er positiv, skal ”Tox”-reaktionen undersøges visuelt for fremkomst af en lodret blå linje på ”Tox”-siden af *reaktionsvinduet*. En blå linje indikerer en positiv test. En positiv ”C”-reaktion indikeret af en lodret, punkteret blå linje under ”C”-delen af *reaktionsvinduet* bekræfter, at testen fungerer korrekt, og at resultaterne er valide.

LEVERED MATERIALER

MEM | DEV — ***Membranenheder*** – hver pose indeholder 1 enhed

DIL | SPE — ***Diluent* (22 ml pr. flaske)** – Proteinopløsning tilsat buffer med måle pipette monteret (indeholder 0,05 % ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Vaskebuffer* (12 ml pr. flaske)** – Opløsning tilsat buffer med målepipette monteret (indeholder 0,05 % ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Substrat* (3,5 ml pr. flaske)** – Opløsning indeholdende tetramethylbenzidin

CONJ | ENZ — ***Konjugat* (2,5 ml pr. flaske)** – Antistof specifikt for glutamatdehydrogenase koblet til peberrodsperoxidase og antistoffer specifikke for toksin A og B koblet til peberrodsperoxidase i en proteinopløsning med buffer (indeholder 0,05 % ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Positiv kontrol* (2 ml)** – Antigen i en proteinopløsning med buffer

Transferpipetter af plast til engangsbrug – skalainddeling ved 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL og 500 µL

IVD — Til *in vitro*-diagnostisk brug

*Signalord: Advarsel
H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

NØDVENDIGE MATERIALER OG UDSTYR SOM IKKE MEDFØLGER

Små prøveglas (f.eks. mikrocentrifugerør af plast eller glasrør)
Applikatorpinde — *Timer* — *Vortex-mikser*
Engangshandsker til håndtering af fæcesprøver — *Pipettor og spidser*

HOLDBARHED OG OPBEVARING

Udløbsdatoen for kittet findes på etiketten. Udløbsdatoer for hver komponent er anført på de enkelte etiketter. Kittet skal opbevares ved 2° C til 8° C.

SIKKERHEDSFORANSTALTNINGER

1. Til *in vitro*-diagnostisk brug. Kun til professionel brug.
2. Reagenser fra forskellige kit må ikke blandes eller ombyttes. Et kit må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
3. Enhver komponent i kittet skal efterses for eventuelle tegn på lækage. Ved ankomsten skal kittet efterses for at sikre, at komponenterne ikke er frosne eller varme ved berøring som følge af ukorrekte forsendelsesforhold.

For Professional Use Only

4. Lad alle komponenter få RUMTEMPERATUR FØR BRUG!
5. Hætter, spidser og pipetteenheder er farvemærkede og må IKKE blandes eller ombyttes!
6. Reagenserne må ikke fryses. Kittet skal opbevares ved 2° C til 8° C.
7. Posen, der indeholder *membranenheden*, skal have rumtemperatur før åbning. Hold membranenheden tør før brug.
8. Brug fæcesprøver inden for 72 timer efter indhentningen for at opnå optimale resultater. Prøver, som fryses, kan miste aktivitet som følge af nedfrysning og optøning. Hvis der anvendes frosne prøver, skal de optøs ved rumtemperatur.
9. Hold reagensflasker lodret ved dispensering af reagenser for at sikre ensartet dråbestørrelse og korrekt volumen.
10. Prøver og membranenheder skal håndteres og bortskaffes som potentielt biologisk skadelige efter brug.
11. Membranenheder kan ikke genbruges.
12. Testen er optimeret med hensyn til følsomhed og specificitet. Ændringer af den angivne procedure og/eller af testforhold kan påvirke testens følsomhed og specificitet. Afvig ikke fra den angivne procedure.
13. Vær opmærksom på den totale analysetid, når der testes mere end en fæcesprøve. Tilsæt *diluent* først, og tilsæt derefter *konjugatet* til hvert glas med *diluent*. Tilsæt så prøve til glasset med *diluent/konjugat*. Bland alle de fortyndede prøver grundigt, og overfør dem til *membranenheden*. Inkubationstrinnet på 15 minutter begynder, når den sidste fortyndede blanding af prøve og konjugat er blevet overført til den sidste *membranenhed*.
14. Hvis *substrat*-reagenset ændrer sig til en mørkeblå/violet farve, tilkaldes teknisk service med henblik på udskiftning.
15. Fæcesprøver kan indeholde potentielt infektiøse stoffer og skal håndteres på "Biosikkerhedsniveau 2" som anbefalet i CDC/NIH-brugerhåndbogen "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories."
16. Brug engangshandsker, når testen udføres.
17. *Konjugat*-, *diluent*- og *vaskebuffer*-reagenser indeholder 0,05 % ProClin® 300 som konserveringsmiddel. Selvom koncentrationen er lav, er det kendt, at ProClin® 300 er skadeligt (hudsensibilisering kan forekomme). I tilfælde af hudsensibilisering/hudirritation eller udslæt, skal der søges læge. Tag forurenet tøj af, og vask det, før det bruges igen. Reagenserne skal håndteres i henhold til de gældende bestemmelser for laboratoriesikkerhed og god laboratoriepraksis. Sikkerhedsdatablade for dette produkt fås ved forespørgsel, kontakt teknisk support.
18. Følg henholdsvis de nationale, regionale og lokale forordninger vedrørende bestemmelserne for bortskaffelse af affald.

INDHENTNING, HÅNDTERING OG OPBEVARING AF FÆCESPRØVER

Acceptable prøvetyper
Friske fæcesprøver
Frosne fæcesprøver
Prøver i transportmedier (Cary Blair, C&S)

Brug ikke
Fæcesprøver i formalinbaseret fiksativ (f.eks. natriumacetatformalin, 10 % formalin, merthiolatformalin)
Fæcesprøver i alkoholbaseret fiksativ (f.eks. polyvinylalkohol)

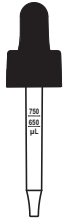
Prøveopbevaring Temperatur	Acceptabel opbevaringstid	Kommentarer
2° C–8° C	72 timer	Ideelle prøver er mindre end 24 timer gamle
Frosset ≤ -10° C	Mere end 72 timer	Optøs ved rumtemperatur. Nedfrysning og optøning flere gange kan resultere i tab af prøveaktivitet som følge af toksinnedbrydning.

1. Standardindsamlings- og håndteringsprocedurer, der anvendes internt til fæcesprøver, er egnede.
2. Fæcesprøver skal indsamles i rene, tætte beholdere.
3. Opbevaring af fæcesprøver i *diluenten* anbefales IKKE.
4. Lad ikke fæcesprøverne blive i *diluent/konjugat*-blandingen i >24 timer.

PRØVEKLARGØRING

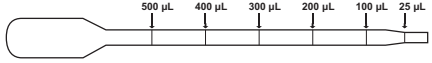
1. Lad alle reagenser og det nødvendige antal enheder få rumtemperatur før brug. Det anbefales at fjerne reagenserne fra skumindsatsen for at reducere den tid, der er nødvendig for at opvarme dem til rumtemperatur.
2. Klargør og mærk ét lille prøveglas for hver prøve og valgfrie eksterne kontroller som nødvendigt
3. Med brug af den sorte monterede målepipette tilsættes 750 µl (2 skalainddeling fra spidsen) *diluent* til hvert glas til fæcesprøver. **For prøver i transportmedier så som Cary Blair eller C&S tilsættes 650 µl (første målemærke fra spidsen) *diluent* til glasset.**

Prøvetype	*Diluent*volumen
Friske fæcesprøver	750 µl (2 skalainddeling fra spidsen)
Frosne fæcesprøver (frosne ufortyndede)	750 µl (2 skalainddeling fra spidsen)
Prøver i transportmedier (Cary Blair, C&S)	650 µl (første målemærke fra spidsen)
Eksterne kontroller (positive og negative)	750 µl (2 skalainddeling fra spidsen)



4. Tilsæt én dråbe *konjugat* (flaske med rød hætte) til hvert glas.
5. Tag én transferpipette af plast (leveret med kittet) til hver prøve – pipetterne har ophøjede skalainddelinger ved 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL og 500 µL.

Skalainddelt transferpipette



6. **Bland alle prøver grundigt uanset konsistens - det er afgørende, at prøverne er opslæmmet ensartet før overførsel.**
   Flydende/halvfaste prøver – pipetter 25 µl prøve med en transferpipette, og dispenser til *diluent/konjugat*-blandingen. Brug den samme transferpipette til at blande den fortyndede prøve.
   Formede/faste prøver – Vær omhyggelig med at tilsætte den korrekte mængde formet fæces til prøveblandingen. Bland prøven grundigt ved hjælp f en applikatorpind af træ, og overfør en lille del (ca. 2 mm i diameter, svarende til 25 µl) af prøven til diluent/konjugat-blandingen. Emulger prøven ved hjælp af applikatorpinden.
   Fæcesprøver i transportmediet Cary Blair eller C&S - pipetter 100 µl (2. skalainddeling fra transferpipettens spids) af prøven til *diluent/konjugat*-blandingen.

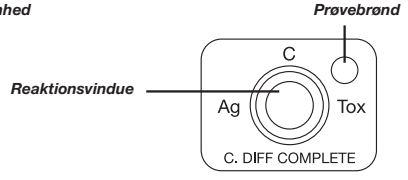
For Instructional Use Only

7. **Valgfrie eksterne kontrolprøver:**
   Ekstern positiv kontrol - tilsæt én dråbe *positiv kontrol* (flaske med grå hætte) til *diluent/konjugat*-blandingen.
   Ekstern negativ kontrol - tilsæt 25 µl *diluent* til *diluent/konjugat*-blandingen.

BEMÆRK Hvis der overføres for lidt prøve, eller hvis blanding og fuldstændig opslemning af prøven i diluent/konjugat-blandingen mislykkes, kan det resultere i et falsk negativt testresultat. Tilsætning af for meget fæcesprøve kan medføre ugyldige resultater som følge af begrænset prøveflow.

TESTPROCEDURE

1. Tag én *membranenhed* pr. prøve og én enhed pr. valgfri ekstern positiv eller negativ kontrol som nødvendigt. Folieposerne indeholdende enhederne skal varmes op til rumtemperatur før åbning. Brug enheden straks efter åbningen. Mærk hver enhed behørigt, og anbring den på en plan flade, så det trykte "C. DIFF COMPLETE" er nederst på enheden, og så den lille prøvebrønd befinder sig i øverste højre hjørne af enheden.



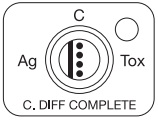
2. Luk hvert glas med fortyndet prøve, og bland grundigt. Korrekt blanding kan opnås ved at svinge glasset rundt eller vende det på hovedet. Når en patientprøve eller *positiv kontrol* er blevet fortyndet i *diluent/konjugat*-blandingen, kan den inkuberes ved rumtemperatur i et hvilket som helst tidsrum op til 24 timer før tilsætning til *membranenheden*.
3. Brug en ny transferpipette, og overfør 500 µl af den fortyndede blanding af prøve og konjugat til *membranenhedens* ***prøvebrønd*** (det mindste hul i det øverste højre hjørne af enheden), idet man sikrer sig, at den flydende prøve udtømmes på puden med vægevirkning inden i *membranenheden*. Når prøven fyldes i prøvebrønden skal man sikre sig, at spidsen af transferpipetten har en skrå retning mod *reaktionsvinduet* (største hul i midten af enheden).
4. Enheden inkuberes ved rumtemperatur i 15 minutter – prøven vil trække væske igennem enheden, og et vådt område vil sprede sig hen over *reaktionsvinduet*.
   BEMÆRK ANGÅENDE PRØVER, HVOR VANDRING MISLYKKES:
   Nu og da vandrer en fortyndet prøve ikke rigtigt, og reaktionsvinduet bliver ikke helt vådt. Hvis reaktionsvinduet ikke ser ud til at blive helt vådt inden for 5 minutter efter tilsætning af prøven til prøvebrønden, tilsættes 100 µl (4 dråber) diluent til prøvebrønden. Vent yderligere 5 minutter (i i alt 20 minutter).
5. Efter inkuberingen tilsættes 300 µl *vaskebuffer* til ***reaktionsvinduet*** ved hjælp af den monterede hvide målepipette. Lad *vaskebufferen* løbe igennem reaktionsvinduets membran og blive absorberet fuldstændigt.
6. Tilsæt 2 dråber *substrat* (flaske med hvid hætte) til ***reaktionsvinduet***. Aflæs og registrer resultaterne visuelt efter 10 minutter.

TOLKNING AF RESULTATER

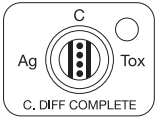
1. Tolkning af testen er mest pålidelig, når enheden aflæses straks ved slutningen af reaktionsperioden på 10 minutter. Aflæs enheden i normal arbejdsafstand i et godt oplyst område. Se på den med en sigtelinje lige over enheden.
2. Iagttag enheden med henblik på fremkomst af blå prikker midt i *reaktionsvinduet*, som repræsenterer den interne positive kontrol. Fremkomsten af eventuel(le) kontrolprik(ker) repræsenterer en valid intern kontrol. Baggrundens farve kan vise sig som hvid til lys blå. Iagttag enheden for fremkomst af blå linjer på "Ag"- og "Tox"-siderne af *reaktionsvinduet*, som repræsenterer testlinjerne. Linjernes intensitet kan fremstå som svag til mørk.
3. **Positivt antigenresultat ("Ag").** Et positivt antigenresultat kan tolkes på et hvilket som helst tidspunkt mellem tilsætningen af *substrat* og den 10-minutters aflæsningstid. Ved et positivt antigenresultat er den blå "Ag"-linje og den punkterede blå kontrollinje under "C" synlige (Figur 1a). Linjernes intensitet kan fremstå som svag til mørk. En tydeligt partiel linje tolkes som et positivt resultat. Membranmisfarvning må ikke tolkes som et positivt resultat. Et positivt resultat indikerer forekomst af *C. difficile*.
4. **Positivt antigen- og toksinresultat ("Tox"):** Hvis antigenresultatet er positivt (dvs. hvis der ses en blå "Ag"-linje og en punkteret blå kontrol under "C"), fortsætter man til tolkningen af toksinresultatet. Et positivt toksinresultat kan tolkes på et hvilket som helst tidspunkt mellem tilsætningen af *substrat* og den 10-minutters aflæsningstid. Ved et positivt toksinresultat ses en blå "Tox"-linje (Figur 1b). Linjens intensitet kan fremstå som svag til mørk. En tydeligt partiel linje tolkes som et positivt resultat. Membranmisfarvning må ikke tolkes som et positivt resultat. Et positivt resultat indikerer forekomst af *C. difficile*-toksin.
5. **Negativt resultat:** En test kan ikke tolkes som negativ eller ugyldig før 10 minutter efter tilsætningen af *substrat*. Der ses en enkelt blå punkteret linje midt i *reaktionsvinduet,* under "C", og der ses ingen testlinjer på "Ag"-siden eller "Tox"-siden af *reaktionsvinduet* (Figur 1c). Et negativt resultat i antigendelen indikerer, at der ikke er *C. difficile*-antigen i prøven, eller at det er under testens detektionsgrænse. Et negativt resultat i toksindelen indikerer, at der ikke er C. difficile-antigen i prøven, eller at det er under testens detektionsgrænse.
6. **Ugyldigt resultat:** Der ses ingen linjer i reaktionsvinduet (Figur 1d). Testresultatet er ugyldigt, hvis der ikke findes en blå punkteret linje under "C" ved afslutningen af reaktionsperioden (Figurerne 1e, 1f og 1g).
7. **Negativt antigen ("Ag"), positivt toksin ("Tox"):** En lille procentdel af prøverne kan teste negative for antigen, men positive for toksin. Disse prøver skal betragtes som ubestemmelige og testes igen med brug af en frisk prøve (Figur 1h). Hvis prøven igen tester negativt for antigen, men positivt for toksin, skal det rapporteres som positivt toksinresultat.

For Institutional Use Only

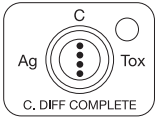
FIGUR 1: TOLKNING AF *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® RESULTATER



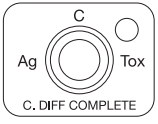
Figur 1a
Positivt antigenresultat



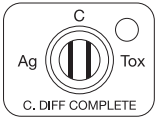
Figur 1b
Positivt antigen- og toksinresultat



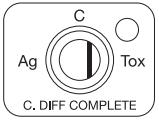
Figur 1c
Negativt resultat



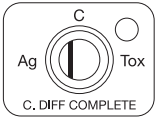
Figur 1d
Ugyldigt resultat



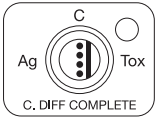
Figur 1e
Ugyldigt resultat



Figur 1f
Ugyldigt resultat



Figur 1g
Ugyldigt resultat



Figur 1h
Se nr. 7 angående tolkning

KVALITETSKONTROL

Intern: Der skal ses en punkteret blå linje midt i *reaktionsvinduet* under "C" på hver *membranenhed*, som testes. Fremkomsten af de blå kontrolprikker bekræfter, at prøven og reagenserne er blevet tilsat korrekt, at reagenserne var aktive på tidspunktet, hvor analysen blev udført, og at prøven vandrede korrekt gennem *membranenheden*. Det bekræfter desuden reaktiviteten af de andre reagenser, der er associeret med analysen. En ensfarvet baggrund i resultatområdet betragtes om en intern negativ kontrol. Hvis testen er blevet udført korrekt, og hvis reagenserne fungerer rigtigt, vil baggrunden være hvid for at give et skelneligt resultat.

Ekstern: Reaktiviteten af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® kittet skal verificeres ved modtagelsen ved hjælp af den *positive kontrol* og den negative kontrol (*diluent*). Den *positive kontrol* leveres sammen med kittet (flaske med grå hætte). Den *positive kontrol* bekræfter reaktiviteten af de andre reagenser, der er associeret med analysen, og er ikke beregnet til at sikre præcision ved analyse-cut-off. *Diluent* anvendes til den negative kontrol. Der kan udføres yderligere test med kontrollerne for at opfylde kravene i lokale, statslige og/eller forbundsstatslige bestemmelser og/eller krav fra akkrediteringsorganisationer.

BEGRÆNSNINGER

1. Testen *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® anvendes til at påvise C. difficile-antigen og -toksin(er) i fæcesprøver. Testen bekræfter forekomst af toksin i fæces, og denne information skal tages op til behandling af lægen i lyset af patientens sygehistorie og lægeundersøgelse. Testen *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® vil påvise niveauer af toksin A på ≥0,63 ng/ml, toksin B på ≥0,16 ng/ml og glutamatdehydrogenase på ≥0,8 ng/ml.
2. Fæcesprøver er ekstremt komplekse. Optimale resultater med testen *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® opnås med prøver, som er under 24 timer gamle. De fleste ufortyndede prøver kan opbevares ved mellem 2° C og 8° C i 72 timer, før der bemærkes væsentlig nedbrydning af toksinet Hvis prøverne ikke analyseres inden for denne tid, kan de nedfryses og optøs. Gentagen nedfrysning og optøning kan dog resultere i tab i immunreaktivitet hos antigen og toksinerne A og B.
3. Visse prøver kan give svage reaktioner. Det kan skyldes en række faktorer så som forekomst af lave niveauer af antigen og/eller toksin, forekomst af bindende stoffer eller inaktiverende enzymer i fæces. Linjernes intensitet kan fremstå som svag til mørk. Disse prøver skal rapporteres som positive, hvis der ses en blå linje, selv en partiel linje. En tydeligt partiel blå linje tolkes som et positivt resultat.
4. Fæcesprøver, der er præserveret i 10 % formalin, merthiolatformalin, natriumacetatformalin eller polyvinylalkohol kan ikke bruges.
5. Testen *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® er kvalitativ Farveintensiteten må ikke tolkes kvantitativt.
6. Visse isolater af *C. sordellii* kan reagere ved *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen som følge af produktionen af immunologisk relaterede toksiner (1).
7. Koloniseringsrater på op til 50 % er blevet rapporteret hos spædbørn. Der er også rapporteret en høj rate hos patienter med cystisk fibrose (1,3). Resultaterne kan se positive ud i disse grupper, men de skal ses i sammenhæng med muligheden for, at det er en koloniseret bærer.
8. Den eneste ikke-*C. difficile*-organisme, der reagerede i toksindelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen, var *Clostridium sordellii* VPI 9048. Denne stamme producerer toksinerne HT og LT, som er homologe med henholdsvis toksin A og toksin B.
9. Der findes ingen data vedrørende virkningerne af colonskylninger, bariumlavementer, laksativer eller tarmudrensninger på funktionen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen. Alle disse procedurer kan resultere i kraftig fortynding eller forekomst af additiver, som kan påvirke testens funktion.

FORVENTEDE VÆRDIER

Clostridium difficile-sygdom er først og fremmest en nosokomiel sygdom hos ældre patienter, og sygdomsfrekvensen er afhængig af faktorer som patientpopulation, institutionstype og epidemiologi. Den rapporterede incidens af *C. difficile*-sygdom hos patienter med antibiotika-associeret diare kan variere fra 5 til 20 %, og hospitaler kan opleve rater, der er lavere eller højere end dette interval. Det er vigtigt at betragte alle testresultater i sammenhæng med kliniske symptomer, da nogle raske voksne og et stort antal raske spædbørn (op til 50 %) vil være positive over for *C. difficile*-toksin. Desuden er der rapporteret rater for *C. difficile*-bærere på 22 % til 32 % hos patienter med cystisk fibrose (1,3). I de forsøg, der ved hjælp af patienter med symptomer er blevet udført for denne enhed, var incidensen for toksin A og B 12 % og for GDH 18 %. Et positivt resultat i antigendelen af testen *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® bekræfter forekomsten af *C. difficile* i en fæcesprøve. Et negativt resultat indikerer, at organismen ikke findes. Et positivt resultat i toksindelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® bekræfter forekomsten af *C. difficile*-toksin i en fæcesprøve. Et negativt resultat indikerer, at der ikke findes toksin, eller at der er utilstrækkelige niveauer af toksin til påvisning.

For Instructional Use Only

FINKTIONSKARAKTERISTIKA

Klinisk evaluering af antigendelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen

Antigendelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen blev sammenlignet med bakteriedyrkning. Prøver, der var inkluderet i evalueringen, blev indsendt til de kliniske laboratorier til rutinetestning. Den bakterielle dyrkningstest blev udført i overensstemmelse med interne procedurer. Resultaterne er vist i Tabel 1.

Tabel 1 Opsummering af klinisk funktion ved sammenligning af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen og bakteriedyrkning.

n = 1126	Bakteriedyrkning Positiv	Bakteriedyrkning Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje positiv	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje negativ	21	842

		95 % konfidensgrænser
Følsomhed	90,5 %	85,7–93,9
Specificitet	93,1 %	91,2–94,7
Prædiktiv positiv værdi	76,4 %	70,7–81,3
Prædiktiv negativ værdi	97,6 %	96,2–98,4
Korrelation	92,6 %	91,8–93,4

Uoverensstemmende prøver blev evalueret ved brug af gyldige ELISA-test for *C. difficile*-glutamatdehydrogenase.
29 af de 62 falsk positive prøver var positive med en anden GDH-test og blev betragtet som sande positiver.
13 af de 21 falsk negative prøver var negative med en anden GDH-test og blev betragtet som sande negativer.

Antigendelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen blev sammenlignet med vævsdyrkningsassay med hensyn til påvisning af C. difficile-toksin. Prøver, der var inkluderet i evalueringen, blev indsendt til de kliniske laboratorier til rutinetestning. Resultaterne er vist i Tabel 2. Antigendelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen påviste 98,7 % af de prøver, der var positive ved vævsdyrkning.

Tabel 2 Opsummering af klinisk funktion ved sammenligning af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen og vævsdyrkningsassay.

n = 1126	Vævsdyrkning Positiv	Vævsdyrkning Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje positiv	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje negativ	2	861

Klinisk evaluering af toksindelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen

Toksindelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen blev sammenlignet med vævsdyrkningsassay på to kliniske laboratorier og internt ved TECHLAB, Inc. Prøverne, der var inkluderet i evalueringen, blev sendt til de kliniske laboratorier til rutinetestning. Resultaterne er vist i Tabel 3.

Tabel 3 Opsummering af klinisk funktion ved sammenligning af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen og vævsdyrkningsassay.

n = 1126	Vævsdyrkning Positiv	Vævsdyrkning Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksinlinje positiv	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksinlinje negativ	19	964

		95 % konfidensgrænser
Følsomhed	87,8 %	81,4-92,3
Specificitet	99,4 %	98,6-99,7
Prædiktiv positiv værdi	95,8 %	90,7-98,3
Prædiktiv negativ værdi	98,1 %	96,9-98,8
Korrelation	97,8 %	97,6-98,0

Uoverensstemmende prøver blev evalueret ved brug af gyldige ELISA-test for toksin A og B.
5 af de 6 falsk positive prøver var positive med ELISA og blev betragtet som sande positiver.
12 af de 19 falsk negative prøver var negative med ELISA og blev betragtet som sande negativer.

For Instructional Use Only

EFFEKT AF FÆCESPRØVEKONSISTENS

Effekt af fæcesprøvekonsistens på *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen

Reaktionen af fæcesprøver af varierende konsistens i antigendelen (n=978) og toksindelen (n=981) på *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen er vist i Tabel 4 og 5. Procentdelen af positive reaktioner ved brug af enten dyrkningsassay eller *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen var næsten ens ved alle tre typer fæcesprøver (flydende, halvfast og fast). Alle prøverne blev sendt til C. difficile-testning. Baggrunden for fremsendelsen var patientens sygehistorie og ikke konsistensen af prøven. I antigendelen viser resultaterne, at *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen fungerede lig bakteriedyrkning ved test af prøver af forskellig konsistens. I toksindelen viser resultaterne, at *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen fungerede lig vævsdyrkningsassay ved test af prøver af forskellig konsistens.

Tabel 4 Reaktion af fæcesprøver af varierende konsistens i antigendelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen

Antal prøver (n = 978)	Flydende prøver (n = 335)	Halvfaste prøver (n = 522)	Faste prøver (n = 121)
Positive ved bakteriedyrkningsassay	59 (17,6 %)	110 (21,1 %)	19 (15,7 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje positiv	72 (21,5 %)	128 (24,5 %)	25 (20,7 %)
Negative ved bakteriedyrkningsassay	276 (82,4 %)	412 (78,9 %)	102 (84,3 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje negativ	263 (78,5 %)	394 (75,5 %)	96 (79,3 %)

Tabel 5 Reaktion af fæcesprøver af varierende konsistens i toksindelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen

Antal prøver (n = 981)	Flydende prøver (n = 336)	Halvfaste prøver (n = 523)	Faste prøver (n = 122)
Positive ved vævsdyrkningsassay	43 (12,8 %)	81 (15,5 %)	8 (6,6 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksinlinje positiv	42 (12,5 %)	72 (13,8 %)	7 (5,7 %)
Negative ved vævsdyrkningsassay	293 (87,2 %)	442 (84,5 %)	114 (93,4 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksinlinje negativ	294 (87,5 %)	451 (86,2 %)	115 (94,3 %)

ANALYSEFØLSOMHED

Cut-off for analysen blev fastsat til koncentrationer på 0,63 ng/ml for toksin A, 0,16 ng/ml for toksin B og 0,8 ng/ml for glutamatdehydrogenase.

REPRODUCERBARHED

Reproducerbarheden af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen blev bestemt ved brug af 12 fæcesprøver, som blev kodet for at forhindre identifikation af dem under testning. Testningen blev udført ved 3 uafhængige laboratorier, som testede proverne i 3 dage. Prøverne frembragte de forventede resultater 100 % af tiden.

KRYDSREAKTION

Fæcesprøver inokuleret med de følgende mikroorganismer til en slutkoncentration på omkring 10^8 organismer pr. ml eller derover reagerede ikke i antigen- eller toksindelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen:

Bakterie eller patogen: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (ikke-toksigen)*, Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC*, Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7*, Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans)*, Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Den eneste ikke-*C. difficile*-organisme, der reagerede i toksindelen af *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen, var *Clostridium sordellii* VPI 9048. Denne stamme producerer toksinerne HT og LT, som er homologe med henholdsvis toksin A og toksin B.

De følgende vira på $10^{3,3}$ til $10^{8,25}$ TCID-enheder pr. 0,2 ml reagerede ikke ved *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen:

Vira: Adenovirus type 1, 2, 3, 5, 40, 41, Humant coronavirus, Coxsackievirus B2, B3, B4, B5, Echovirus 9, 11, 18, 22, 33, Enterovirus type 68, 69, 70, 71, Rotavirus.

FORSTYRRENDE STOFFER

De følgende stoffer (USA-formulering) havde ingen virkning på testresultaterne, når de fandtes i fæces i de angivne koncentrationer: Mucin (3,5 % w/v), humant blod (40 % v/v), bariumsulfat (5 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), stearin-/palmitinsyre (40 % w/v), Metronidazol (0,25 % w/v), Vancomycin (0,25 % w/v).

REAKTION AF KLINISKE ISOLATER OPNÅET PÅ CYCLOSERIN-CEFOXITIN-FRUKTOSE-AGAR (CCFA)

I alt 103 kliniske isolater af *C. difficile* opnået ved anaerob bakteriedyrkning på CCFA efter 3 dage ved 37° C blev testet med *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testen. Til analysen blev der udvalgt individuelle kolonier, som blev opslæmmet i *diluent* som anbefalet for fæcesprøver. Alle 103 isolater gav en positiv antigenrekation ved testen.

70 af 103 isolater (68 %) var fra fæcesprøver, som var positive med hensyn til *C. difficile* -toksin ved vævsdyrkningsassay. Af disse gav 56 (80 %) en positiv toksinreaktion ved screening efter anaerob vækst på CCFA i 3 dage ved 37° C.

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

ΕΝΔΕΔΕΙΓΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η εξέταση TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* είναι μια ταχεία ανάλυση ενζυμικού ανοσοπροσδιορισμού σε μεμβράνη για την ταυτόχρονη ανίχνευση του αντιγόνου «γλουταμικής δεσυδρογονάσης» του *Clostridium difficile* και των τοξινών Α και Β σε μία κυψελίδα αντίδρασης. Η εξέταση ανιχνεύει το αντιγόνο του *C. difficile*, γλουταμική δεσυδρογονάση, ως απόδειξη για την παρουσία του *C. difficile* και επιβεβαιώνει την παρουσία τοξικογόνου *C. difficile* ανιχνεύοντας τις τοξίνες Α και Β σε δείγματα κοπράνων ατόμων για τα οποία υπάρχει υποψία ότι πάσχουν από νόσο που σχετίζεται με το *C. difficile*. Η εξέταση προορίζεται για χρήση ως βοήθημα στη διάγνωση νόσου που σχετίζεται με το *C. difficile*. Όπως συμβαίνει με άλλες εξετάσεις για το *C. difficile*, τα αποτελέσματα θα πρέπει να μελετώνται σε συνδυασμό με το ιστορικό του ασθενούς.

ΕΞΗΓΗΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Μετά από την αγωγή με αντιβιοτικά, πολλοί ασθενείς αναπτύσσουν προβλήματα του γαστρεντερικού τα οποία κυμαίνονται από ήπια διάρροια μέχρι ψευδομεμβρανώδη κολίτιδα. Πολλές περιπτώσεις ηπιότερων μορφών των γαστρεντερικών νοσημάτων και οι περισσότερες περιπτώσεις της ψευδομεμβρανώδους κολίτιδας προκαλούνται από τοξικογόνα στελέχη του *Clostridium difficile* (1). Αυτός ο οργανισμός είναι ένα ευκαιριακό αναερόβιο βακτήριο το οποίο αναπτύσσεται στο έντερο μόλις η φυσιολογική χλωρίδα αλλοιωθεί από το αντιβιοτικό. Τα τοξικογόνα στελέχη του *C. difficile* φέρουν τα γονίδια που κωδικοποιούν τις τοξίνες, ενώ τα μη τοξικογόνα στελέχη δεν φέρουν γονίδια τοξινών. Η εκδήλωση της νόσου σχετίζεται με τις τοξίνες που παράγονται από τον τοξικογόνο οργανισμό. Τα κλινικά συμπτώματα που σχετίζονται με τη νόσο θεωρείται ότι οφείλονται κυρίως στην τοξίνη Α, η οποία είναι μια εντεροτοξίνη που καταστρέφει τον ιστό (2,3). Το *C. difficile* παράγει επίσης μια δεύτερη τοξίνη, την προσδιορισμένη τοξίνη Β. Η τοξίνη Β, η οποία έχει αναφερθεί ως η κυτταροτοξίνη του οργανισμού, είναι η τοξίνη που ανιχνεύεται από την ανάλυση της ιστοκαλλιέργειας η οποία χρησιμοποιείται επί του παρόντος από πολλά εργαστήρια. Τα τοξικογόνα στελέχη του *C. difficile* παράγουν και τις δύο τοξίνες ή μόνο την τοξίνη Β (4-7). Η γλουταμική δεσυδρογονάση του *C. difficile* αποτελεί έναν καλό δείκτη αντιγόνου για αυτόν τον οργανισμό στα κόπρανα, επειδή παράγεται σε υψηλά ποσοστά από όλα τα στελέχη, τοξικογόνα ή μη τοξικογόνα (8-10). Το αντιγόνο μπορεί να ανιχνευτεί σε δείγματα κοπράνων με χρήση της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Το θετικό αποτέλεσμα της εξέτασης για τη γλουταμική δεσυδρογονάση του *C. difficile* επιβεβαιώνει τη παρουσία αυτού του οργανισμού σε δείγμα κοπράνων, ενώ το αρνητικό αποτέλεσμα υποδεικνύει την απουσία του οργανισμού. Το θετικό αποτέλεσμα της εξέτασης για τις τοξίνες Α και Β επιβεβαιώνει την παρουσία τοξικογόνου *C. difficile*.

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* χρησιμοποιεί ειδικά αντισώματα για τη γλουταμική δεσυδρογονάση και τις τοξίνες Α και Β του *C. difficile*. Η συσκευή περιέχει ένα παράθυρο αντίδρασης με τρεις κατακόρυφες γραμμές ακινητοποιημένων αντισωμάτων. Η γραμμή εξέτασης αντιγόνου («Ag») περιέχει αντισώματα έναντι της γλουταμικής δεσυδρογονάσης του *C. difficile*. Η γραμμή ελέγχου («C») είναι μια διαδικτυη γραμμή που περιέχει αντισώματα υπεροξειδάσης από ραφανίδα (HRP). Η γραμμή εξέτασης τοξινών Α και Β («Tox») περιέχει αντισώματα έναντι των τοξινών Α και Β του *C. difficile*. Το *σύζευγμα* περιέχει αντισώματα έναντι της γλουταμικής δεσυδρογονάσης και αντισώματα έναντι των τοξινών Α και Β συζευγμένα με υπεροξειδάση από ραφανίδα. Για την εκτέλεση της εξέτασης, το δείγμα προστίθεται σε έναν σωλήνα που περιέχει ένα μείγμα *αραιωτικού* και *συζεύγματος*. Το μείγμα αραιωμένου δείγματος-συζεύγματος προστίθεται στην *κυψελίδα δείγματος* και η συσκευή επωάζεται σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της επώασης, τυχόν γλουταμική δεσυδρογονάση και τοξίνες Α και Β που υπάρχουν στο δείγμα δεσμεύονται στα συζεύγματα αντισωμάτων-υπεροξειδάσης. Τα συμπλέγματα συζεύγματος αντιγόνου-αντισωμάτων μετακινούνται μέσω ενός φιλτρόπανου σε μια μεμβράνη όπου δεσμεύονται από τα ακινητοποιημένα ειδικά αντισώματα για τη γλουταμική δεσυδρογονάση και τις τοξίνες Α και Β στις γραμμές. Κατόπιν, το *παράθυρο αντίδρασης* πλένεται με *ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης* και, στη συνέχεια, προστίθεται το *υπόστρωμα*. Μετά από επώαση 10 λεπτών, η αντίδραση «Ag» εξετάζεται οπτικά για την εμφάνιση μια κατακόρυφης μπλε γραμμής στην πλευρά «Ag» του *παραθύρου αντίδρασης*.

Η μπλε γραμμή υποδεικνύει θετικό αποτέλεσμα της εξέτασης. Αν η αντίδραση «Ag» είναι θετική, τότε πρέπει να εξεταστεί οπτικά η αντίδραση «Tox» για την εμφάνιση μια μπλε γραμμής στην πλευρά «Tox» του *παραθύρου αντίδρασης*. Η μπλε γραμμή υποδεικνύει θετικό αποτέλεσμα της εξέτασης. Η θετική αντίδραση «C», η οποία υποδεικνύεται από μια κατακόρυφη διάστικτη μπλε γραμμή κάτω από το τμήμα «C» του *παραθύρου αντίδρασης*, επιβεβαιώνει ότι η εξέταση λειτουργεί σωστά και τα αποτελέσματα είναι έγκυρα.

ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

MEM | DEV — ***Μεμβρανικές συσκευές*** – κάθε θύλακας περιέχει 1 συσκευή

DIL | SPE — ***Αραιωτικό* (22 mL ανά φιάλη)** – Ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης με διαβαθμισμένο σταγονόμετρο (περιέχει 0,05% ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης* (12 mL ανά φιάλη)** – Ρυθμιστικό διάλυμα με διαβαθμισμένο σταγονόμετρο (περιέχει 0,05% ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Υπόστρωμα* (3,5 mL ανά φιάλη)** – Διάλυμα που περιέχει τετραμεθυλοβενζιδίνη

CONJ | ENZ — ***Σύζευγμα* (2,5 mL ανά φιάλη)** – Ειδικό αντίσωμα για τη γλουταμική δεσυδρογονάση συζευγμένο με υπεροξειδάση από ραφανίδα και ειδικά αντισώματα για τις τοξίνες Α και Β συζευγμένα με υπεροξειδάση από ραφανίδα σε ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης (περιέχει 0,05% ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Θετικός ορός ελέγχου* (2 mL)** – Αντιγόνο σε ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης

Πλαστικές πιπέτες μεταφοράς μίας χρήσης – διαβαθμισμένες στα 25 μL, 100 μL, 200 μL, 300 μL, 400 μL και 500 μL

IVD — Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

*Προειδοποιητική λέξη: Προειδοποίηση
H317: Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Μικροί δοκιμαστικοί σωλήνες (π.χ. πλαστικοί σωλήνες μικροφυγοκέντρησης ή γυάλινοι σωλήνες)
Ραβδία εφαρμογής — *Χρονόμετρο* — *Αναμείκτης vortex*
Γάντια μίας χρήσης για χειρισμό των δειγμάτων κοπράνων — *Σύστημα πιπετών και ρύγχη*

ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Η ημερομηνία λήξης του κιτ αναφέρεται στην ετικέτα. Η ημερομηνία λήξης για κάθε συστατικό αναφέρεται στην ξεχωριστή ετικέτα του συστατικού. Το κιτ πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία μεταξύ 2°C και 8°C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Για *in vitro* διαγνωστική χρήση. Μόνο για επαγγελματική χρήση.
2. Μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικά κιτ και μην τα εναλλάσσετε μεταξύ τους. Μην χρησιμοποιείτε ένα κιτ μετά το πέρας της ημερομηνίας λήξης.

For Instructional Use Only

3. Κάθε συστατικό του κιτ πρέπει να ελέγχεται για τυχόν ενδείξεις διαρροής. Κατά την άφιξη του κιτ, ελέγξτε το για να βεβαιωθείτε ότι τα συστατικά δεν είναι παγωμένα ή θερμά στην αφή λόγω ακατάλληλων συνθηκών αποστολής.
4. Αφήστε όλα τα συστατικά να έρθουν σε ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΔΩΜΑΤΙΟΥ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ!
5. Τα πώματα, τα ρύγχη και τα σταγονόμετρα φέρουν χρωματική κωδικοποίηση. ΜΗΝ τα αναμειγνύετε και ΜΗΝ τα εναλλάσσετε μεταξύ τους!
6. Μην ψύχετε τα αντιδραστήρια. Το κιτ πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία μεταξύ 2°C και 8°C.
7. Ο θύλακας που περιέχει τη *μεμβρανική συσκευή* πρέπει να βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου πριν από το άνοιγμα. Διατηρείτε τις μεμβρανικές συσκευές στεγνές πριν από τη χρήση.
8. Χρησιμοποιείτε τα δείγματα κοπράνων εντός 72 ωρών από τη συλλογή τους για να επιτύχετε τα βέλτιστα αποτελέσματα. Τα δείγματα που έχουν ψυχθεί ενδέχεται να χάσουν τη δραστικότητά τους λόγω της ψύξης και της απόψυξης. Σε περίπτωση χρήσης κατεψυγμένων δειγμάτων, αποψύξτε τα σε θερμοκρασία δωματίου.
9. Διατηρείτε τις φιάλες αντιδραστηρίων σε κατακόρυφη θέση κατά τη διανομή, προκειμένου να εξασφαλίσετε ότι η παροχή πραγματοποιείται με συνέπεια στο μέγεθος των σταγόνων και σε σωστό όγκο.
10. Πρέπει να χειρίζεστε και να απορρίπτετε τα δείγματα και τις μεμβρανικές συσκευές ως δυνητικώς βιοεπικίνδυνα υλικά μετά από τη χρήση τους.
11. Δεν είναι δυνατή η εκ νέου χρήση των μεμβρανικών συσκευών.
12. Η εξέταση έχει βελτιστοποιηθεί για τη επίτευξη ευαισθησίας και ειδικότητας. Τυχόν τροποποιήσεις της καθορισμένης διαδικασίας ή/και των προϋποθέσεων της εξέτασης ενδέχεται να επηρεάσουν την ευαισθησία και την ειδικότητα της εξέτασης. Μην αποκλίνετε από την καθορισμένη διαδικασία.
13. Δώστε προσοχή στο συνολικό χρόνο της ανάλυσης κατά την εξέταση περισσότερων του ενός δειγμάτων κοπράνων. Προσθέστε πρώτα το *αραιωτικό* και, στη συνέχεια, προσθέστε το *σύζευγμα* σε κάθε σωλήνα *αραιωτικού*. Κατόπιν, προσθέστε το δείγμα στο σωλήνα του *αραιωτικού/συζεύγματος*. Αναμείξτε διεξοδικά όλα τα αραιωμένα δείγματα και μεταφέρετέ τα στη *μεμβρανική συσκευή*. Το βήμα της 15λεπτης επώασης πρέπει να ξεκινήσει αφού έχετε μεταφέρει και το τελευταίο αραιωμένο μείγμα δείγματος-συζεύγματος στην τελευταία *μεμβρανική συσκευή*.
14. Αν το αντιδραστήριο *υποστρώματος* γίνει σκούρο μπλε/μωβ, επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη για αντικατάσταση.
15. Τα δείγματα κοπράνων ενδέχεται να περιέχουν δυνητικώς λοιμογόνους παράγοντες και δεν πρέπει να υποβάλλονται σε χειρισμό στο «Επίπεδο βιοασφάλειας 2», όπως συνιστάται στο εγχειρίδιο «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories» (Βιοασφάλεια σε μικροβιολογικά και βιοϊατρικά εργαστήρια) του Κέντρου ελέγχου και πρόληψης νοσημάτων (CDC) /Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας (NIH) των Η.Π.Α.
16. Φοράτε γάντια μιας χρήσης κατά την εκτέλεση της εξέτασης.
17. Τα αντιδραστήρια *σύζευγμα*, *αραιωτικό* και *Ρυθμιστικό διάλυμα* πλύσης περιέχουν 0,05% ProClin® 300 ως συντηρητικό. Αν και η συγκέντρωση είναι χαμηλή, το ProClin® 300 είναι γνωστό ότι είναι επιβλαβές (ενδέχεται να παρατηρηθεί ευαισθητοποίηση του δέρματος). Εάν παρατηρηθεί ευαισθητοποίηση/ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό. Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύνετέ τα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε. Να χειρίζεστε τα αντιδραστήρια σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς για την ασφάλεια του εργαστηρίου και τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές. Τα Δελτία δεδομένων ασφαλείας για αυτό το προϊόν είναι διαθέσιμα κατόπιν αιτήματος. Επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη.
18. Τηρείτε τις εθνικές, περιφερειακές και τοπικές διατάξεις αντιστοίχως για την απόρριψη των αποβλήτων.

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

Αποδεκτοί τύποι δειγμάτων
Νωπά δείγματα κοπράνων
Κατεψυγμένα δείγματα κοπράνων
Δείγματα σε υλικά μεταφοράς (Cary Blair, C&S)

Μην χρησιμοποιείτε
Δείγματα κοπράνων σε μονιμοποιητικό διάλυμα με βάση τη φορμαλίνη (π.χ. φορμαλίνη με οξικό νάτριο, 10% φορμαλίνης, φορμαλίνη merthiolate)
Δείγματα κοπράνων σε μονιμοποιητικό διάλυμα με βάση το οινόπνευμα (π.χ. πολυβινυλο-αλκοόλη)

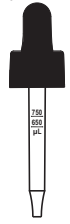
Θερμοκρασία φύλαξης δείγματος	Αποδεκτή διάρκεια φύλαξης	Παρατηρήσεις
2°C – 8°C	72 ώρες	Τα ιδανικά δείγματα είναι εκείνα που έχουν συλλεχθεί πριν από χρονικό διάστημα μικρότερο των 24 ωρών
Κατεψυγμένα ≤ -10°C	Μεγαλύτερη από 72 ώρες	Αποψύξτε σε θερμοκρασία δωματίου. Η επανειλημμένη ψύξη και απόψυξη ενδέχεται να οδηγήσει σε απώλεια της δραστικότητας των δειγμάτων λόγω αλλοίωσης των τοξινών.

1. Ενδείκνυνται οι τυπικές διαδικασίες συλλογής και χειρισμού που εφαρμόζονται εντός των εργαστηρίων για τα δείγματα κοπράνων.
2. Τα δείγματα κοπράνων πρέπει να συλλέγονται σε καθαρά, στεγανά δοχεία.
3. ΔΕΝ συνιστάται η φύλαξη των δειγμάτων κοπράνων στο *αραιωτικό*.
4. Μην αφήνετε τα δείγματα κοπράνων στο μείγμα *αραιωτικού/συζεύγματος* για χρονικό διάστημα >24 ωρών.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

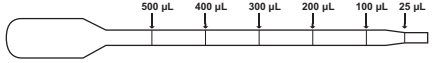
1. Αφήστε όλα τα αντιδραστήρια και τον απαιτούμενο αριθμό συσκευών να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Συνιστάται να αφαιρείτε τα αντιδραστήρια από το αφρώδες περίβλημα για να μειώσετε το χρονικό διάστημα που απαιτείται για τη θέρμανσή τους, προκειμένου να φτάσουν στη θερμοκρασία δωματίου.
2. Τοποθετήστε σε όρθια θέση και επισημάνετε με ετικέτα έναν μικρό δοκιμαστικό σωλήνα για κάθε δείγμα και προαιρετικούς εξωτερικούς ορούς ελέγχου, εφόσον χρειάζονται.
3. Χρησιμοποιώντας το μαύρο διαβαθμισμένο σταγονόμετρο, προσθέστε 750 μL (2η διαβάθμιση από το ρύγχος) *αραιωτικού* σε κάθε σωληνάριο για τα δείγματα κοπράνων. **Για δείγματα σε υλικά μεταφοράς, όπως τα Cary Blair ή τα C&S, προσθέστε 650 μL (1η διαβάθμιση από το ρύγχος) *αραιωτικού* στο σωλήνα.**

Τύπος δείγματος	Όγκος *αραιωτικού*
Νωπά δείγματα κοπράνων	750 μL (2η διαβάθμιση από το ρύγχος)
Κατεψυγμένα δείγματα κοπράνων (κατεψυγμένα μη αραιωμένα)	750 μL (2η διαβάθμιση από το ρύγχος)
Δείγματα σε υλικά μεταφοράς (Cary Blair, C&S)	650 μL (1η διαβάθμιση από το ρύγχος)
Εξωτερικοί οροί ελέγχου (θετικός και αρνητικός)	750 μL (2η διαβάθμιση από το ρύγχος)



4. Προσθέστε μία σταγόνα *συζεύγματος* (φιάλη με κόκκινο πώμα) σε κάθε σωλήνα.
5. Χρησιμοποιήστε μία πλαστική πιπέτα μεταφοράς μίας χρήσης (παρέχεται με το κιτ) για κάθε δείγμα – οι πιπέτες φέρουν αυξανόμενες διαβαθμίσεις στα 25 μL, 100 μL, 200 μL, 300 μL, 400 μL και 500 μL.

Διαβαθμισμένη πιπέτα μεταφοράς:



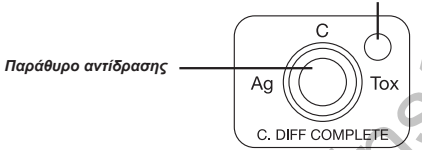
For Instructional Use Only

6. **Αναμείξτε διεξοδικά όλα τα δείγματα ανεξάρτητα από τη σύστασή τους - η ομαλή εναιώρηση των δειγμάτων είναι απαραίτητη πριν από τη μεταφορά.**
Υδαρή/Ημιστερεά δείγματα – μεταφέρετε 25 μL δείγματος με μια πιπέτα μεταφοράς και χορηγήστε το στο μείγμα *αραιωτικού/συζεύγματος*. Χρησιμοποιήστε την ίδια πιπέτα μεταφοράς για να αναμείξετε το αραιωμένο δείγμα.
Σχηματισμένα/Στερεά δείγματα – Πρέπει να δοθεί προσοχή στην προσθήκη της σωστής ποσότητας σχηματισμένων κοπράνων στο μείγμα δείγματος. Αναμείξτε διεξοδικά το μείγμα χρησιμοποιώντας ένα ξύλινο ραβδίο εφαρμογής και μεταφέρετε μια μικρή ποσότητα (διαμέτρου 2 mm περίπου που αντιστοιχεί σε 25 μL) του δείγματος στο μείγμα αραιωτικού/συζεύγματος. Γαλακτωματοποιήστε το δείγμα χρησιμοποιώντας το ραβδίο εφαρμογής.
Δείγματα κοπράνων σε υλικό μεταφοράς Cary Blair ή C&S - μεταφέρετε 100 μL (2η διαβάθμιση από το ρύγχος της πιπέτας μεταφοράς) του δείγματος στο μείγμα *αραιωτικού/συζεύγματος*.
7. **Προαιρετικά δείγματα εξωτερικών ορών ελέγχου:**
Εξωτερικός θετικός ορός ελέγχου - προσθέστε μία σταγόνα *θετικού ορού ελέγχου* (φιάλη με γκρι πώμα) στο μείγμα *αραιωτικού/συζεύγματος*.
Εξωτερικός αρνητικός ορός ελέγχου - προσθέστε 25 μL *αραιωτικού* στο μείγμα *αραιωτικού/συζεύγματος*.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η μεταφορά πολύ μικρής ποσότητας δείγματος ή η παράλειψη ανάμειξης και πλήρους εναιώρησης του δείγματος στο μείγμα αραιωτικού/συζεύγματος ενδέχεται να οδηγήσει σε ψευδές αρνητικό αποτέλεσμα της εξέτασης. Η προσθήκη υπερβολικής ποσότητας δείγματος κοπράνων ενδέχεται να οδηγήσει σε μη έγκυρα αποτελέσματα λόγω περιορισμένης ροής του δείγματος.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

1. Χρησιμοποιήστε μία *μεμβρανική συσκευή* ανά δείγμα και μία συσκευή ανά προαιρετικό εξωτερικό θετικό ή αρνητικό ορό ελέγχου, εφόσον χρειάζεται. Πρέπει να αφήνετε τους θύλακες αλουμινίου που περιέχουν τις συσκευές να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου προτού τους ανοίξετε. Χρησιμοποιήστε τη συσκευή άμεσα μετά το άνοιγμα. Επισημάνετε κάθε συσκευή με τη κατάλληλη ετικέτα και τοποθετήστε την σε επίπεδη επιφάνεια έτσι ώστε η επιγραφή «C. DIFF COMPLETE» να βρίσκεται στην κάτω πλευρά της συσκευής και η μικρή κυψελίδα δείγματος να βρίσκεται στην επάνω δεξιά γωνία της συσκευής.



2. Κλείστε κάθε σωλήνα αραιωμένου δείγματος και αναμείξτε διεξοδικά. Μπορείτε να επιτύχετε σωστή ανάμειξη πραγματοποιώντας περιδίνηση ή αναστρέφοντας το σωλήνα. Αφού ένα δείγμα ασθενούς ή ένας *θετικός ορός ελέγχου* αραιωθεί στο μείγμα *αραιωτικού/συζεύγματος*, μπορεί να επωαστεί σε θερμοκρασία δωματίου για χρονικό διάστημα έως και 24 ωρών πριν από την προσθήκη του στη *μεμβρανική συσκευή*.
3. Χρησιμοποιώντας μια νέα πιπέτα μεταφοράς μεταφέρετε 500 μL αραιωμένου μείγματος δείγματος-συζεύγματος στην ***κυψελίδα δείγματος*** (τη μικρότερη οπή στην επάνω δεξιά γωνία της συσκευής) μιας *μεμβρανικής συσκευής* εξασφαλίζοντας ότι το υγρό δείγμα αποστραγγίζεται στο τμήμα απορρόφησης που βρίσκεται στο εσωτερικό της *μεμβρανικής συσκευής*. Κατά τη φόρτωση του δείγματος στην κυψελίδα δείγματος, εξασφαλίστε ότι το ρύγχος της πιπέτας μεταφοράς κλίνει προς το *παράθυρο αντίδρασης* (τη μεγαλύτερη οπή στο μέσο της συσκευής).
4. Επωάστε τη συσκευή σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά – το δείγμα θα απορροφηθεί από τη συσκευή και θα εμφανιστεί μια υγρή περιοχή κατά πλάτος του *παραθύρου αντίδρασης*.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΜΕΤΑΚΙΝΟΥΝΤΑΙ:
Σε μερικές περιπτώσεις, ένα αραιωμένο δείγμα δεν μετακινείται σωστά και το παράθυρο αντίδρασης δεν είναι υγρό σε όλη την έκτασή του. Αν το παράθυρο αντίδρασης δεν φαίνεται εντελώς υγρό σε διάστημα 5 λεπτών από την προσθήκη του δείγματος στην κυψελίδα δείγματος, τότε προσθέστε 100 μL (4 σταγόνες) αραιωτικού στην κυψελίδα δείγματος και περιμένετε ακόμα 5 λεπτά (συνολικά 20 λεπτά).
5. Μετά από την επώαση προσθέστε 300 μL *ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης* στο ***παράθυρο αντίδρασης*** χρησιμοποιώντας το λευκό διαβαθμισμένο σταγονόμετρο. Αφήστε το *ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης* να διέλθει μέσα από τη μεμβράνη του παραθύρου αντίδρασης και να απορροφηθεί πλήρως.
6. Προσθέστε 2 σταγόνες *υποστρώματος* (φιάλη με λευκό πώμα) στο ***παράθυρο αντίδρασης***. Μετά από 10 λεπτά ελέγξτε και καταγράψτε τα αποτελέσματα οπτικά.

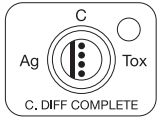
ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

1. Η ερμηνεία της εξέτασης είναι πιο αξιόπιστη όταν ελέγχετε τη συσκευή αμέσως μετά το πέρας της περιόδου αντίδρασης 10 λεπτών. Ελέγξτε τα αποτελέσματα στη συσκευή από κανονική απόσταση εργασίας σε επαρκώς φωτισμένο χώρο. Κοιτάξτε σε ευθεία γραμμή ακριβώς πάνω από τη συσκευή.
2. Ελέγξτε τη συσκευή για την παρουσία των μπλε κουκίδων στο μέσο του *παραθύρου αντίδρασης* που αντιπροσωπεύουν το εσωτερικό θετικό ορό ελέγχου. Η εμφάνιση κουκκίδων ελέγχου υποδεικνύει ότι ο εσωτερικός έλεγχος είναι έγκυρος. Το φόντο ενδέχεται να εμφανίζεται από λευκό έως γαλάζιο. Ελέγξτε τη συσκευή για την παρουσία των μπλε γραμμών στις πλευρές «Ag» και «Tox» του *παραθύρου αντίδρασης* που αντιπροσωπεύουν τις γραμμές εξέτασης. Οι γραμμές ενδέχεται να εμφανίζονται αχνές έως έντονες ως προς την ένταση.
3. **Θετικό αποτέλεσμα για αντιγόνο («Ag»):** Ένα θετικό αποτέλεσμα για αντιγόνο μπορεί να ερμηνευθεί οποιαδήποτε στιγμή μεταξύ της προσθήκης *υποστρώματος* και του 10λεπτου χρονικού διαστήματος ανάγνωσης. Για να είναι ένα αποτέλεσμα για αντιγόνο θετικό, η μπλε γραμμή «Ag» και η διάστικτη μπλε γραμμή ελέγχου κάτω από την ένδειξη «C» πρέπει να είναι ορατές (Εικόνα 1α). Οι γραμμές ενδέχεται να εμφανίζονται αχνές έως έντονες ως προς την ένταση. Μια εμφανής μερική γραμμή ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα. Μην ερμηνεύετε τον αποχρωματισμό της μεμβράνης ως θετικό αποτέλεσμα. Το θετικό αποτέλεσμα υποδεικνύει την παρουσία του *C. difficile*.
4. **Θετικό αποτέλεσμα για αντιγόνο και τοξίνες («Tox»):** Αν το αποτέλεσμα για αντιγόνο είναι θετικό (δηλαδή εμφανίζεται μια μπλε γραμμή «Ag» και μια διάστικτη μπλε γραμμή ελέγχου κάτω από την ένδειξη «C»), προχωρήστε στην ερμηνεία του αποτελέσματος για τις τοξίνες. Ένα θετικό αποτέλεσμα για τις τοξίνες μπορεί να ερμηνευθεί οποιαδήποτε στιγμή μεταξύ της προσθήκης *υποστρώματος* και του 10λεπτου χρονικού διαστήματος ανάγνωσης. Για να είναι ένα αποτέλεσμα για τοξίνες θετικό, η μπλε γραμμή «Tox» πρέπει να είναι ορατή (Εικόνα 1β). Η γραμμή ενδέχεται να εμφανίζεται αχνή έως έντονη ως προς την ένταση. Μια εμφανής μερική γραμμή ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα. Μην ερμηνεύετε τον αποχρωματισμό της μεμβράνης ως θετικό αποτέλεσμα. Το θετικό αποτέλεσμα υποδεικνύει την παρουσία της τοξίνης *C. difficile*.
5. **Αρνητικό αποτέλεσμα:** Μια εξέταση δεν μπορεί να ερμηνεύεται ως αρνητική ή άκυρη προτού παρέλθουν 10 λεπτά από την προσθήκη του *υποστρώματος*. Μία μπλε διάστικτη γραμμή εμφανίζεται στο μέσο του *παραθύρου αντίδρασης*, κάτω από την ένδειξη «C» και δεν εμφανίζεται καμία γραμμή εξέτασης στην πλευρά «Ag» ή στην πλευρά «Tox» του *παραθύρου αντίδρασης*, (Εικόνα 1γ). Το αρνητικό αποτέλεσμα στο τμήμα εξέτασης αντιγόνου υποδεικνύει ότι το αντιγόνο του *C. difficile* είτε απουσιάζει από το δείγμα είτε βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης της εξέτασης. Το αρνητικό αποτέλεσμα στο τμήμα εξέτασης τοξινών υποδεικνύει ότι η τοξίνη C. difficile είτε απουσιάζει από το δείγμα είτε βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης της εξέτασης.
6. **Μη έγκυρο αποτέλεσμα:** Καμία γραμμή δεν εμφανίζεται στο παράθυρο αντίδρασης (Εικόνα 1δ). Το αποτέλεσμα της εξέτασης δεν είναι έγκυρο αν δεν εμφανίζεται μια μπλε διάστικτη γραμμή κάτω από την ένδειξη «C» αφού παρέλθει η περίοδος αντίδρασης (Εικόνες 1ε, 1στ, 1ζ).
7. **Αρνητικό αποτέλεσμα για αντιγόνο («Ag»), θετικό αποτέλεσμα για τοξίνες («Tox»):** Ένα μικρό ποσοστό δειγμάτων ενδέχεται να βρεθούν αρνητικά στο αντιγόνο αλλά θετικά στις τοξίνες. Αυτά τα δείγματα πρέπει να θεωρηθούν ασαφή και οι ασθενείς πρέπει να εξεταστούν ξανά με χρήση νέου δείγματος (Εικόνα 1η). Αν η επανεξέταση του δείγματος αποφέρει αρνητικό αποτέλεσμα για το αντιγόνο αλλά θετικό για τις τοξίνες, καταγράψτε το ως θετικό αποτέλεσμα για τις τοξίνες.

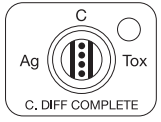
Instructional Use Only

EL

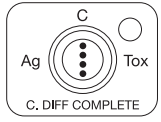
ΕΙΚΟΝΑ 1: ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*



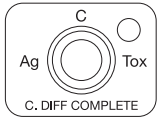
Εικόνα 1α
Θετικό αποτέλεσμα για αντιγόνο



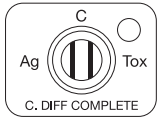
Εικόνα 1β
Θετικό αποτέλεσμα για αντιγόνο και τοξίνες



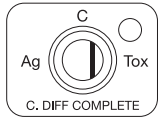
Εικόνα 1γ
Αρνητικό αποτέλεσμα



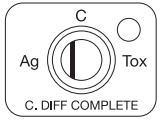
Εικόνα 1δ
Μη έγκυρο αποτέλεσμα



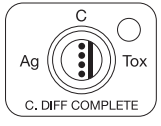
Εικόνα 1ε
Μη έγκυρο αποτέλεσμα



Εικόνα 1στ
Μη έγκυρο αποτέλεσμα



Εικόνα 1ζ
Μη έγκυρο αποτέλεσμα



Εικόνα 1η
Ανατρέξτε στην παράγραφο 7 για ερμηνεία

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Εσωτερικός: Μία μπλε διάστικτη γραμμή πρέπει να είναι ορατή στο μέσο του *παραθύρου αντίδρασης*, κάτω από την ένδειξη «C» σε κάθε *μεμβρανική συσκευή* που εξετάζεται. Η εμφάνιση των μπλε κουκίδων ελέγχου επιβεβαιώνει ότι το δείγμα και τα αντιδραστήρια προστέθηκαν σωστά, ότι τα αντιδραστήρια ήταν δραστικά κατά το χρόνο εκτέλεσης της ανάλυσης και ότι το δείγμα μετακινήθηκε σωστά μέσω της *μεμβρανικής συσκευής*. Επίσης, επιβεβαιώνει την αντιδραστικότητα των άλλων αντιδραστηρίων που σχετίζονται με την ανάλυση. Το ενιαίο φόντο στην περιοχή αποτελεσμάτων θεωρείται ως εσωτερικός αρνητικός έλεγχος. Αν η εξέταση έχει εκτελεστεί σωστά και τα αντιδραστήρια λειτουργούν σωστά, το φόντο θα είναι λευκό για να αποδώσει ένα διακριτό αποτέλεσμα.

Εξωτερικός: Η αντιδραστικότητα του κιτ *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* πρέπει να επαληθεύεται κατά την παραλαβή με χρήση του *θετικού ορού ελέγχου* και του αρνητικού ορού ελέγχου (*αραιωτικό*). Ο *θετικός ορός ελέγχου* παρέχεται με το κιτ (φιάλη με γκρι πώμα). Ο *θετικός ορός ελέγχου* επιβεβαιώνει την αντιδραστικότητα των άλλων αντιδραστηρίων που σχετίζονται με την ανάλυση και δεν προορίζεται για τη διασφάλιση της ακρίβειας των οριακών τιμών της ανάλυσης. Το *αραιωτικό* χρησιμοποιείται για τον αρνητικό έλεγχο. Μπορούν να εκτελεστούν πρόσθετες εξετάσεις με τους ορούς ελέγχους, προκειμένου να επιτευχθεί συμμόρφωση με τις απαιτήσεις των τοπικών, περιφερειακών ή/και κρατικών κανονισμών ή/και των οργανισμών πιστοποίησης.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* χρησιμοποιείται για την ανίχνευση του αντιγόνου και των τοξινών του C. difficile σε δείγματα κοπράνων. Η εξέταση επιβεβαιώνει την παρουσία τοξινών στα κόπρανα και αυτές οι πληροφορίες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από τον ιατρό σε συνδυασμό με το ιατρικό ιστορικό και τη φυσική εξέταση του ασθενούς. Η εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* ανιχνεύει τα επίπεδα της τοξίνης A σε συγκέντρωση ≥0,63 ng/mL, της τοξίνης B σε συγκέντρωση ≥0,16 ng/mL και της γλουταμικής δεσυδρογονάσης σε συγκέντρωση ≥0,8 ng/mL.
2. Τα δείγματα κοπράνων είναι εξαιρετικά πολύπλοκα. Τα βέλτιστα αποτελέσματα με την εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* λαμβάνονται με δείγματα που έχουν συλλεχθεί πριν από χρονικό διάστημα μικρότερο των 24 ωρών. Τα περισσότερα μη αραιωμένα δείγματα μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία μεταξύ 2°C και 8°C για 72 ώρες, χρονικό διάστημα μετά το οποίο ενδέχεται να παρατηρηθεί σημαντική αλλοίωση των τοξινών. Αν τα δείγματα δεν αναλυθούν εντός αυτού του χρονικού διαστήματος, μπορούν να καταψυχθούν και να αποψυχθούν. Ωστόσο, η επανειλημμένη ψύξη και απόψυξη ενδέχεται να οδηγήσει σε απώλεια της ανοσοαντιδραστικότητας του αντιγόνου και των τοξινών A και B.
3. Ορισμένα δείγματα ενδέχεται να έχουν μικρές αντιδράσεις. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, όπως την παρουσία χαμηλών επιπέδων αντιγόνου ή/και τοξίνης, την παρουσία δεσμευτικών ουσιών ή ενζύμων αδρανοποίησης στα κόπρανα. Οι γραμμές ενδέχεται να εμφανίζονται αχνές έως έντονες ως προς την ένταση. Αυτά τα δείγματα πρέπει να αναφέρονται ως θετικά αν παρατηρείται μια μπλε γραμμή, ακόμα κι αν είναι μερική. Μια εμφανής μερική μπλε γραμμή ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα
4. Δείγματα κοπράνων διατηρημένα σε συγκέντρωση 10% φορμαλίνης, φορμαλίνη merthiolate, φορμαλίνη με οξικό νάτριο ή πολυβινυλο-αλκοόλη δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν.
5. Η εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* είναι ποιοτική. Η ένταση του χρώματος δεν θα πρέπει να ερμηνεύεται ποσοτικά.
6. Ορισμένα μεμονωμένα στελέχη *C. sordellii* ενδέχεται να αντιδράσουν στην εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*, εξαιτίας της παραγωγής τοξινών που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό (1).
7. Ποσοστά αποικισμού έως και 50% έχουν αναφερθεί σε βρέφη. Επίσης, έχει αναφερθεί υψηλό ποσοστό σε ασθενείς με κυστική ίνωση (1,3). Τα αποτελέσματα ενδέχεται να εμφανίζονται ως θετικά σε αυτές τις ομάδες, αλλά θα πρέπει να εξετάζονται σε συνδυασμό με την πιθανότητα να πρόκειται για αποικισμένους φορείς.
8. Ο μόνος μη *C. difficile* οργανισμός που αντέδρασε στο τμήμα των τοξινών της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* ήταν ο *Clostridium sordellii* VPI 9048. Αυτό το στέλεχος παράγει τοξίνες HT και LT, οι οποίες είναι ομόλογες των τοξινών A και B, αντίστοιχα.
9. Δεν υπάρχουν δεδομένα για την επίδραση που έχουν οι πλεύσεις του κόλου, ο βαριούχος υποκλυσμός, τα καθαρτικά ή η προετοιμασία του παχέος εντέρου στην απόδοση της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Όλες αυτές οι διαδικασίες μπορούν να οδηγήσουν στην εκτεταμένη αραίωση ή την παρουσία πρόσθετων ουσιών που ενδέχεται να επηρεάσουν την απόδοση της εξέτασης.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Η νόσος *Clostridium difficile* είναι κατ' αρχάς μια νοσοκομειακή νόσος που προσβάλλει ηλικιωμένους ασθενείς και η συχνότητα της νόσου εξαρτάται από παράγοντες, όπως τον πληθυσμό των ασθενών, τον τύπο του ιδρύματος και την επιδημιολογία. Η αναφερθείσα συχνότητα της νόσου *C. difficile* σε ασθενείς με διάρροια που σχετίζεται με αντιβιοτικά ενδέχεται να κυμαίνεται μεταξύ του 5 και του 20% και τα νοσοκομεία μπορεί να αντιμετωπίσουν περιστατικά σε ποσοστά μεγαλύτερα ή μικρότερα αυτού του εύρους. Είναι σημαντικό τα αποτελέσματα των εξετάσεων να ληφθούν υπόψη σε συνδυασμό με τα κλινικά συμπτώματα, επειδή ορισμένοι υγιείς ενήλικες και ένας μεγάλος αριθμός υγειών βρεφών (έως 50%) θα είναι θετικοί στην τοξίνη *C. difficile*. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ένα ποσοστό 22% έως 32% φορέων της τοξίνης *C. difficile* σε ασθενείς με κυστική ίνωση (1,3). Στις μελέτες που διεξήχθησαν για την παρούσα συσκευή, με χρήση συμπτωματικών ασθενών, η συχνότητα των τοξινών A και B ήταν 12% και της τοξίνης GDH ήταν 18%. Ένα θετικό αποτέλεσμα στο τμήμα του αντιγόνου της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* επιβεβαιώνει την παρουσία του οργανισμού *C. difficile* στο δείγμα των κοπράνων, ενώ ένα

For Instructional Use Only

αρνητικό αποτέλεσμα είναι ενδεικτικό της απουσίας του οργανισμού. Ένα θετικό αποτέλεσμα στο τμήμα των τοξινών της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® επιβεβαιώνει την παρουσία της τοξίνης *C. difficile* στο δείγμα των κοπράνων, ενώ ένα αρνητικό αποτέλεσμα είναι ενδεικτικό της απουσίας της τοξίνης ή υποδεικνύει ανεπαρκή επίπεδα τοξίνης για την ανίχνευση.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Κλινική αξιολόγηση του τμήματος του αντιγόνου της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®
Έγινε σύγκριση του τμήματος του αντιγόνου της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® με την καλλιέργεια βακτηρίων. Τα δείγματα που συμπεριλήφθηκαν στην αξιολόγηση υποβλήθηκαν στα κλινικά εργαστήρια για εξέταση ρουτίνας. Η εξέταση καλλιέργειας βακτηρίων διεξήχθη σύμφωνα με τις διαδικασίες των εργαστηρίων. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Σύνοψη κλινικής απόδοσης στη σύγκριση της εξέτασης C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® με την καλλιέργεια βακτηρίων

n = 1126	Καλλιέργεια βακτηρίων Θετική	Καλλιέργεια βακτηρίων Αρνητική
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Θετική γραμμή αντιγόνου	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Αρνητική γραμμή αντιγόνου	21	842

		95% όρια εμπιστοσύνης
Ευαισθησία	90,5%	85,7 – 93,9
Ειδικότητα	93,1%	91,2 – 94,7
Θετική τιμή πρόβλεψης	76,4%	70,7 – 81,3
Αρνητική τιμή πρόβλεψης	97,6%	96,2 – 98,4
Συσχετισμός	92,6%	91,8 – 93,4

Τα ασύμφωνα δείγματα αξιολογήθηκαν με χρήση τρεχουσών εξετάσεων ELISA για γλουταμική δεσυδρογονάση *C. difficile*.
Είκοσι εννέα από τα 62 ψευδή θετικά δείγματα ήταν θετικά με άλλη εξέταση GDH και θεωρήθηκαν αληθή θετικά.
Δεκατρία από τα 21 ψευδή αρνητικά δείγματα ήταν αρνητικά με άλλη εξέταση GDH και θεωρήθηκαν αληθή αρνητικά.

Έγινε σύγκριση του τμήματος του αντιγόνου της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® με την ιστοκαλλιέργεια για την ανίχνευση της τοξίνης C. difficile. Τα δείγματα που συμπεριλήφθηκαν στην αξιολόγηση υποβλήθηκαν στα κλινικά εργαστήρια για εξέταση ρουτίνας. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον Πίνακα 2. Το τμήμα του αντιγόνου της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® ανίχνευσε το 98,7% των δειγμάτων που ήταν θετικά στην ιστοκαλλιέργεια.

Πίνακας 2. Σύνοψη κλινικής απόδοσης στη σύγκριση της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® με την ιστοκαλλιέργεια

n = 1126	Ιστοκαλλιέργεια Θετική	Ιστοκαλλιέργεια Αρνητική
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Θετική γραμμή αντιγόνου	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Αρνητική γραμμή αντιγόνου	2	861

Κλινική αξιολόγηση του τμήματος των τοξινών της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®
Έγινε σύγκριση του τμήματος των τοξινών της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® με την ιστοκαλλιέργεια σε δύο κλινικά εργαστήρια και εσωτερικά στην TECHLAB, Inc. Τα δείγματα που συμπεριλήφθηκαν στην αξιολόγηση υποβλήθηκαν στα κλινικά εργαστήρια για εξέταση ρουτίνας. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Σύνοψη κλινικής απόδοσης στη σύγκριση της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® με την ιστοκαλλιέργεια

n = 1126	Ιστοκαλλιέργεια Θετική	Ιστοκαλλιέργεια Αρνητική
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Θετική γραμμή τοξινών	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Αρνητική γραμμή τοξινών	19	964

		95% όρια εμπιστοσύνης
Ευαισθησία	87,8%	81,4 - 92,3
Ειδικότητα	99,4%	98,6 - 99,7
Θετική τιμή πρόβλεψης	95,8%	90,7 - 98,3
Αρνητική τιμή πρόβλεψης	98,1%	96,9 - 98,8
Συσχετισμός	97,8%	97,6 - 98,0

Τα ασύμφωνα δείγματα αξιολογήθηκαν με χρήση τρεχουσών εξετάσεων ELISA για τις τοξίνες A και B.
Πέντε από τα 6 ψευδή θετικά δείγματα ήταν θετικά με εξέταση ELISA και θεωρήθηκαν αληθή θετικά.
Δώδεκα από τα 19 ψευδή αρνητικά δείγματα ήταν αρνητικά με εξέταση ELISA και θεωρήθηκαν αληθή αρνητικά.

For Instructional Use Only

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

Επίδραση σύστασης δείγματος κοπράνων στην εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

Η αντίδραση των δειγμάτων κοπράνων διαφόρων συστάσεων στο τμήμα του αντιγόνου (n=978) και το τμήμα των τοξινών (n=981) της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® παρατίθεται στους Πίνακες 4 και 5. Τα ποσοστά των θετικών αντιδράσεων είτε μέσω ανάλυσης καλλιέργειας είτε μέσω της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® ήταν παρόμοια και στους τρεις τύπους των δειγμάτων κοπράνων (υδαρή, ημιστερεά και στερεά). Όλα τα δείγματα υποβλήθηκαν σε εξέταση για C. difficile. Η βάση της υποβολής προς εξέταση ήταν το ιατρικό ιστορικό του ασθενούς και όχι η σύσταση του δείγματος. Στο τμήμα του αντιγόνου, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® διεξήχθη παρόμοια με την καλλιέργεια βακτηρίων κατά την εξέταση δειγμάτων διαφορετικής σύστασης. Στο τμήμα των τοξινών, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® διεξήχθη παρόμοια με την ιστοκαλλιέργεια κατά την εξέταση δειγμάτων διαφορετικής σύστασης.

Πίνακας 4. Αντίδραση δειγμάτων κοπράνων διαφορετικής σύστασης στο τμήμα του αντιγόνου της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

Αριθμός δειγμάτων (n = 978)	Υδαρή δείγματα (n = 335)	Ημιστερεά δείγματα (n = 522)	Στερεά δείγματα (n = 121)
Θετική με καλλιέργεια βακτηρίων	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Θετική γραμμή αντιγόνου	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Αρνητική με καλλιέργεια βακτηρίων	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Αρνητική γραμμή αντιγόνου	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Πίνακας 5. Αντίδραση δειγμάτων κοπράνων διαφορετικής σύστασης στο τμήμα των τοξινών της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

Αριθμός δειγμάτων (n = 981)	Υδαρή δείγματα (n = 336)	Ημιστερεά δείγματα (n = 523)	Στερεά δείγματα (n = 122)
Θετική με ιστοκαλλιέργεια	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Θετική γραμμή τοξινών	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Αρνητική με ιστοκαλλιέργεια	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Αρνητική γραμμή τοξινών	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Η οριακή τιμή για την ανάλυση καθορίστηκε σε συγκεντρώσεις 0,63 ng/mL για την τοξίνη A, 0,16 ng/mL για την τοξίνη B και 0,8 ng/mL για τη γλουταμική δεσυδρογονάση.

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ

Η αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® προσδιορίστηκε με χρήση 12 δειγμάτων κοπράνων, τα οποία κωδικοποιήθηκαν ώστε να μην είναι δυνατή η αναγνώρισή τους κατά την εξέταση. Η εξέταση διεξήχθη από 3 ανεξάρτητα εργαστήρια, τα οποία εξέτασαν τα δείγματα για 3 ημέρες. Τα δείγματα απέδωσαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα στο 100% των εξετάσεων.

ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ

Δείγματα κοπράνων ενοφθαλισμένα με τους ακόλουθους μικροοργανισμούς σε τελική συγκέντρωση περίπου 10^8 ή περισσότερων οργανισμών ανά mL δεν αντέδρασαν στο τμήμα του αντιγόνου ή των τοξινών της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®:

Βακτήριο ή Παθογόνο: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (nontoxigenic), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Ο μόνος μη *C. difficile* οργανισμός που αντέδρασε στο τμήμα των τοξινών της εξέτασης *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® ήταν ο *Clostridium sordellii* VPI 9048. Αυτό το στέλεχος παράγει τοξίνες HT και LT, οι οποίες είναι ομόλογες των τοξινών A και B, αντίστοιχα.

Οι ακόλουθοι ιοί $10^{3.3}$ έως $10^{8.25}$ μονάδων TCID ανά 0,2 mL δεν αντέδρασαν στην εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®:

Ιοί: Αδενοϊός τύπου 1, 2, 3, 5, 40, 41, Ανθρώπινος κορονοϊός, Ιός Κοξάκι B2, B3, B4, B5, Ιός Echo 9, 11, 18, 22, 33, Εντεροϊός τύπου 68, 69, 70, 71, Ροταϊός.

ΠΑΡΕΜΒΑΛΛΟΜΕΝΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Η παρουσία των παρακάτω ουσιών (τυποποίηση Η.Π.Α.) στα κόπρανα στην αναφερόμενη συγκέντρωση δεν είχε καμία επίδραση στα αποτελέσματα της εξέτασης: βλεννίνη (3,5% w/v), ανθρώπινο αίμα (40% v/v), θειικό βάριο (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), στερικό/παλμιτικό οξύ (40% w/v), μετροδιναζόλη (0,25% w/v), βανκομυκίνη (0,25% w/v).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΟΥ ΛΗΦΘΗΚΑΝ ΑΠΟ ΑΓΑΡ ΚΥΚΛΟΣΕΡΙΝΗΣ-ΚΕΦΟΞΙΤΙΝΗΣ-ΦΡΟΥΚΤΟΖΗΣ (CCFA)

Συνολικά 103 κλινικά απομονωμένα στελέχη *C. difficile*, τα οποία λήφθηκαν μέσω αναερόβιας καλλιέργειας βακτηρίων από CCFA μετά από 3 ημέρες στους 37°C, υποβλήθηκαν σε δοκιμασία στην εξέταση *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®. Για την ανάλυση, μεμονωμένες αποικίες συλλέχθηκαν και εναιωρήθηκαν σε *ορμαιωτικό*, όπως συνιστάται για δείγματα κοπράνων. Και τα 103 μεμονωμένα στελέχη είχαν θετική αντίδραση στο αντιγόνο στην εξέταση.

Εβδομήντα από τα 103 μεμονωμένα στελέχη (68%) προήλθαν από δείγματα κοπράνων που αντέδρασαν θετικά στην τοξίνη *C. difficile* με ιστοκαλλιέργεια. Από αυτά, 56 (80%) είχαν θετική αντίδραση στην τοξίνη κατά τον έλεγχο μετά από αναερόβια ανάπτυξη σε CCFA για 3 ημέρες στους 37°C.

For Instruction Booklet Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

A TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* teszt gyors membrán enzim immunoassay a *Clostridium difficile* glutamát-dehidrogenáz antigén, valamint az A és B toxinok egyidejű kimutatására egyetlen reakciówellben. A teszt érzékeli a *C. difficile* antigént, és a glutamát-dehidrogenázt, amely szűrőként használatos a *C. difficile* jelenlétére vonatkozóan és megerősíti a toxigén *C. difficile* jelenlétét azáltal, hogy észleli az A és B toxinokat olyan személyek székletmintájában, akiknél a *C. difficile* betegség gyanúja fennáll. A teszt arra használandó, hogy segítse a *C. difficile* betegség diagnózisát. Mint az egyéb *C. difficile* tesztek esetén, az eredményeket a páciens kórtörténetével együtt kell figyelembe venni.

MAGYARÁZAT

Antibiotikumos kezelés után számos páciensnél gyomor-bélrendszeri problémák lépnek fel, amelyek enyhe hasmenéstől pszeudomembranózus kolitiszig terjednek. A gyomor-bélrendszeri betegség enyhébb formáinak számos eseteit és a pszeudomembranózus colitis legtöbb esetét a *Clostridium difficile* toxigén törzsei okozzák (1). Ez az organizmus opportunista anaerob baktériuma, amely a bélben nő, amint a normál flórát az antibiotikum megváltoztatta. A *C. difficile* toxigén törzsei hordozzák a toxinokat kódoló géneket, míg a nem toxigén törzsek nem hordozzák a toxin géneket. A betegség kialakulása olyan toxinokkal kapcsolatos, amelyeket a toxigén organizmus termel. A betegséggel kapcsolatos klinikai tünetek vélhetően elsősorban az A toxin következtében alakulnak ki, amely egy szövet-károsító enterotoxin (2,3). A *C. difficile* egy másik toxint is termel, amelynek a neve B toxin. A B toxin, amelyre korábban, mint az organizmus citotoxinjára hivatkoztak, számos laboratórium által jelenleg használt szövetkultúra assay által érzékelt toxin. A toxigén *C. difficile* törzsek mindkét toxint vagy csak a B toxint termelik (4-7). A *C. difficile* jó antigén marker a székletben lévő organizmusra vonatkozóan, mivel nagy mennyiségben termeli minden törzs, a toxigén és nem toxigén egyaránt (8-10). Az antigén kimutatható székletmintákban a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* teszt használatával. A *C. difficile* glutamát-dehidrogenázára vonatkozó teszt pozitív eredménye megerősíti a szóban forgó organizmus jelenlétét a székletmintában, a negatív eredmény az organizmus hiányát jelzi. Az A és B toxinokra vonatkozó teszt pozitív eredménye megerősíti a toxigén *C. difficile* jelenlétét.

A TESZT ELVE

A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* olyan antitesteket használ, amelyek specifikusak a glutamát-dehidrogenázra és a *C. difficile* A és B toxinjaira vonatkozóan. Az eszköz az immobilizált antitestek három függőleges vonalával rendelkező reakcióablakot tartalmaz. Az antigén tesztvonal (“Ag”) a *C. difficile* glutamát-dehidrogenáz elleni antitesteket tartalmaz. A kontrollvonal ("C") szaggatott vonal, amely anti-torma-peroxidáz (HRP) antitesteket tartalmaz. Az A és B toxinok tesztvonala ("Tox") a *C. difficile* A és B toxinok elleni antitesteket tartalmaz. A *Konjugátum* a glutamát-dehidrogenázra és az A és B toxinokra vonatkozó antitesteket tartalmazza, amelyek a torma peroxidázhoz kapcsolódnak. A teszt elvégzéséhez a mintát egy olyan csőhöz adják, amely a *Hígító* és a *Konjugátum* keverékét tartalmazza. A hígított minta-konjugátum keveréket hozzáadják a *Minta Wellhez* és az eszközt hagyják inkubálni 15 percig szobahőmérsékleten. Az inkubálás alatt a mintában jelenlévő bármely glutamát-dehidrogenáz, valamint az A és B toxinok az antitest-peroxidáz konjugátumokhoz kötődnek. Az antigén-antitest konjugátum komplexek szűrőbetéten keresztül vándorolnak egy membránhoz, ahol a vonalakban lévő immobilizált glutamát-dehidrogenáz-specifikus, valamint az A- és B-toxin-specifikus antitestek megkötik őket. A *Reakcióablakot* ezután kimossák a *Mosópufferrel*, amelyet a *Szubsztrát* hozzáadása követ. 10 perces inkubációs idő után az "Ag" reakciót szemrevételezéssel megvizsgálják, hogy megjelenik-e egy függőleges kék vonal a *Reakcióablak* "Ag" oldalán. A kék vonal pozitív tesztet jelent. Ha az "Ag" pozitív, a "Tox" reakciót szemrevételezéssel ellenőrizni kell, hogy nincs-e jelen kék vonal a *Reakcióablak* "Tox" oldalán. A kék vonal pozitív tesztet jelent. A pozitív "C" reakciók, amelyet a *Reakcióablak* "C" része alatti függőleges szaggatott kék vonal jelez, megerősíti, hogy a teszt megfelelően működik és az eredmények érvényesek.

HU

BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

MEM | DEV — ***Membráneszközök*** – mindegyik tasak 1 eszközt tartalmaz

DIL | SPE — ***Hígító* (22 ml üvegenként)** – Pufferelt fehérjeoldat fokbeosztásos cseppentő szerelvénnyel (0,05% ProClin® 300-at tartalmaz)* ⚠

WASH | REAG — ***Mosópuffer* (12 ml üvegenként)** – Pufferelt oldat fokbeosztásos cseppentő szerelvénnyel (0,05% ProClin® 300-at tartalmaz)* ⚠

SUBS | REAG — ***Szubsztrát* (3,5 ml üvegenként)** – Tetrametilbenzidint tartalmazó oldat

CONJ | ENZ — ***Konjugátum* (2,5 ml üvegenként)** – Antitest, amely specifikus a glutamát-dehidrogenázra vonatkozóan tormaperoxidázhoz kapcsolva, és antitestek, amelyek specifikusak az A és B toxinokra vonatkozóan, tormaperoxidázhoz kapcsolva, pufferelt fehérjeoldatban (0,05% ProClin® 300-at tartalmaz)* ⚠

CONTROL | + — ***Pozitív kontroll* (2 ml)** – Antigén pufferelt fehérjeoldatban

Eldobható műanyag transzferpipetták – 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl és 500 µl fokbeosztással ellátva.

IVD — *In vitro* diagnosztikai használatra

*Figyelmeztetés: Figyelem
H317: Allergiás bőrreakciót okozhat
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ESZKÖZÖK

Kis tesztcsövek (pl., műanyag mikrocentrifuga csövek vagy üvegcsövek)
Applikátor pálcák *Időzítő* *Vortex keverő*
Eldobható kesztyűk székletminták kezelésére *Pipetta és hegyek*

POLCÉLETTARTAM ÉS TÁROLÁS

A készlet lejárati ideje a címkén szerepel. Mindegyik komponensre vonatkozó lejárati dátumok az egyes címkéken szerepelnek. A készlet 2°C és 8°C között tárolandó.

ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. *In vitro* diagnosztikai használatra. Kizárólag szakmai felhasználásra.
2. A különböző készletekből származó reagenseket nem szabad összekeverni vagy felcserélni. Ne használja a készletet a lejárati dátumon túl.
3. A készlet minden összetevőjét meg kell vizsgálni, hogy nem láthatók-e rajta szivárgás jelei. Megérkezéskor vizsgálja meg a készletet annak biztosítása érdekében, hogy a komponensek ne legyenek fagyottak vagy meleg tapintásúak a nem megfelelő szállítási körülmények miatt.
4. Minden komponenst hozzon SZOBAHŐMÉRSÉKLETRE HASZNÁLAT ELŐTT!
5. A kupakok, hegyek és csepegtető szerelvények színkódoltak; NE keverje, és ne cserélje ki őket!
6. Ne fagyassza le a reagenseket. A készlet 2°C és 8°C között tárolandó.
7. A *Membráneszközt* tartalmazó tasaknak szobahőmérsékletűnek kell lennie felnyitás előtt. A membráneszközöket tartsa szárazon használat előtt.

Professional Use Only

8. A székletmintákat mintavétel után 72 órán belül használja fel az optimális eredmények érdekében. A fagyasztott minták elveszthetik az aktivitásukat a fagyasztás és felolvasztás miatt. Fagyasztott minták használatakor olvassza fel őket szobahőmérsékleten.
9. Tartsa a reagensüvegeket függőlegesen a reagensek adagolására, hogy biztosítsa az egységes cseppméretet és a megfelelő térfogatot.
10. A mintákat és a membráneszközöket potenciális biológiai veszélyforrásként kell kezelni és ártalmatlanítani használat után.
11. A membráneszközök nem használhatók újra.
12. A tesztet optimalizálták érzékenységre és specificitásra vonatkozóan. A megadott eljárás és/vagy tesztfeltételek módosításai befolyásolhatják a teszt érzékenységét és specificitását. Ne térjen el a megadott eljárástól.
13. Figyeljen az assay teljes idejére egynél több székletminta tesztelésekor. Először adja hozzá a *Hígítót*, majd adja a *Konjugátumot* minden, *Hígítót* tartalmazó csőhöz. Majd adja a mintát a *Hígítót*/*Konjugátumot* tartalmazó csőhöz. Alaposan keverje össze az összes hígított mintát és vigye át a *Membráneszközbe*. A 15 perces inkubációs lépés azután kezdődik, hogy az utolsó hígított minta-konjugátum keveréket átvitték a végső *Membráneszközbe*.
14. Ha a *Szubsztrát* reagens sötétkék/lila színre változik, a cseréhez hívja a műszaki szolgálatot.
15. A székletminták potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazhatnak és a 2. biológiai biztonsági szintnek ("Biosafety Level 2") megfelelően kezelendők a CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biológiai biztonság a mikrobiológiai és biomedikai laboratóriumokban)" című kézikönyvében szereplő ajánlás szerint.
16. A teszt végzésekor viseljen eldobható kesztyűt.
17. A *konjugátum*, *hígító* és *mosópuffer* reagensek 0,05% ProClin® 300-at tartalmaznak tartósítószerként. Habár a koncentráció alacsony, a ProClin® 300 káros hatású (bőr szenzibilizációt okozhat). Amennyiben bőr szenzibilizációt/bőrirritációt vagy kiütést okoz, forduljon orvoshoz. Vegye le a szennyezett ruhadarabot és mossa ki, mielőtt újra használná. A reagenst kezelje az érvényben lévő szabályoknak, a laboratóriumi biztonságnak és a helyes laboratóriumi gyakorlatnak megfelelően. Kérésre elérhető a termékhez tartozó biztonsági adatlap. Ehhez lépjen kapcsolatba a technikai ügyfélszolgálattal.
18. Tartsa be a hulladékártalmatlanítási szabályokra vonatkozó nemzeti, regionális és helyi előírásokat.

SZÉKLETMINTÁK LEVÉTELE, KEZELÉSE ÉS TÁROLÁSA

Elfogadható mintatípusok
Friss székletmintákat
Fagyasztott székletmintákat
Mintákat transzportközegben (Cary Blair, C&S)

Ne használjon
Székletmintákat formalin-alapú fixálóban (pl. nátrium-acetát formalin, 10%-os formalin, mertiolát formalin).
Székletmintákat alkoholalapú fixálóban (pl. polivinil-alkohol).

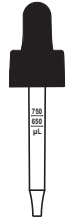
Mintatárolás Hőmérséklet	A tárolás elfogadható hosszúsága	Megjegyzések
2°C – 8°C	72 óra	Az ideális minták 24 órásnál újabbak.
Fagyasztott ≤ -10°C	72 óránál hosszabb	Olvassza fel szobahőmérsékleten. A többszörös fagyasztás és felolvasztás a minta aktivitásának elvesztését eredményezheti a toxin degradációja miatt.

1. A székletmintákkal kapcsolatban alkalmazott szabványos, házon belüli mintavételi és kezelési eljárások megfelelők.
2. A székletmintákat tiszta, szivárgásmentes tartályokban kell gyűjteni.
3. A székletmintáknak a *Hígítóban* való tárolása NEM ajánlott.
4. Ne engedje, hogy a székletminták 24 óránál tovább maradjanak a *Hígító/Konjugátum* keverékben.

A MINTA ELŐKÉSZÍTÉSE

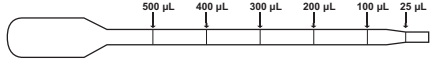
1. Hozza az összes reagenst és a szükséges számú eszközt szobahőmérsékletre használat előtt. Ajánlatos eltávolítani a reagenseket a habbetétből, hogy csökkentsék a szobahőmérsékletre való melegedéshez szükséges időt.
2. Állítson be és jelöljön meg címkével egy kis tesztcsövet minden mintára és opcionális külső kontrollokra vonatkozóan, amint szükséges.
3. A fekete fokbeosztásos cseppegtető szerelvény alkalmazásával adjon hozzá 750 µl (2. fokbeosztás a hegytől mérve) *hígítót* mindegyik csőhöz a széklet minták esetében. **A transzportközegben (mint például Cary Blair vagy C&S) lévő minták esetében adjon 650 µl (a csúcstól az 1. beosztás) *Hígítót* a csőhöz.**

Minta típusa	*Hígító* térfogata
Friss székletminták	750 µl (2. fokbeosztás a hegytől)
Fagyasztott székletminták (fagyasztott hígítatlan)	750 µl (2. fokbeosztás a hegytől)
Minták transzportközegben (Cary Blair, C&S)	650 µl (a csúcstól az 1. beosztás)
Külső kontrollok (pozitív és negatív)	750 µl (2. fokbeosztás a hegytől)



4. Adjon egy csepp *Konjugátumot* (piros kupakos üveg) mindegyik csőhöz.
5. Szerezzen be egy eldobható műanyag transzferpipettát (a készlethez mellékelve) minden mintához – a pipetták kiemelt fokbeosztásokkal rendelkeznek 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl és 500 µl értéknél.

Fokbeosztásos transzferpipetta:



6. **Keverje össze az összes mintát alaposan a konzisztenciától függetlenül - lényeges, hogy az átvitel előtt a minták egyenletesen legyenek szuszpendálva.**
   Folyékony/félig szilárd minták – pipettázzon 25 µl mintát transzferpipettával és adagolja a *Hígító/Konjugátum* keverékbe. Használja ugyanazt a transzferpipettát a hígított minta keverésére.
   Formázott/Szilárd minták – Ügyelni kell, hogy megfelelő mennyiségű formázott székletet adjanak hozzá a mintakeverékhez. Keverje össze a mintát alaposan fa applikátor pálca használatával és vigye át a minta kis mennyiségét (körülbelül 2 mm átmérőjű, amely 25 µl-rel egyenértékű) a Hígító/Konjugátum keverékbe. Emulgeálja a mintát az applikátor pálca használatával.
   Székletminták Cary Blair vagy C&S transzportközegben - pipettázzon 100 µl (a transzferpipetta hegyétől a 2. fokbeosztás) mintát a *Hígító/Konjugátum* keverékbe.

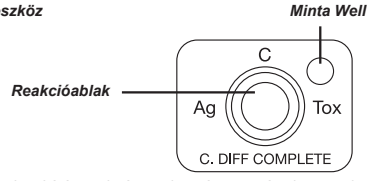
For Instructional Use Only

7. **Opcionális Külső Kontroll Minták:**
   Külső Pozitív Kontroll - adjon hozzá egy csepp *Pozitív Kontrollt* (szürke kupakos üveg) a *Hígító/ Konjugátum* keverékbe.
   Külső Negatív Kontroll - adjon hozzá 25 µl *Hígítót* a *Hígító/Konjugátum* keverékbe.

MEGJEGYZÉS: Ha túl kevés mintát visz át, vagy nem keveri össze és nem szuszpendálja teljesen a mintát a Hígító/Konjugátum keverékben, ez hamis negatív teszteredményt okozhat. A túl sok székletminta hozzáadása érvénytelen eredményeket okozhat a korlátozott mintaáramlás miatt.

TESZTELJÁRÁS

1. Szerezzen be egy *Membráneszközt* mintánként és egy eszközt opcionális külső pozitív vagy negatív kontrollonként, ha szükséges. Az eszközöket tartalmazó fóliazsákokat szobahőmérsékletre kell hozni felnyitás előtt. Az eszközt közvetlenül a nyitás után használja fel. Címkézzen fel minden eszközt megfelelően és irányítsa őket úgy egy sima felületen, hogy a nyomtatott "C. DIFF COMPLETE" felirat az eszköz alján legyen és a kis Minta Well az eszköz jobb felső sarkában legyen.

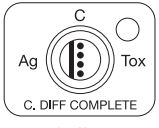


2. Zárjon le minden, hígított mintát tartalmazó csövet és alaposan keverje fel őket. A megfelelő keverés vortexeléssel vagy a cső megfordításával érhető el. Amint a páciens mintája vagy a *Pozitív Kontroll* hígításra került a *Hígító/Konjugátum* keverékben, szobahőmérsékleten inkubálható bármely ideig maximum 24 órával a *Membráneszköz* hozzáadása előtt.
3. Új transzferpipetta alkalmazásával vigyen át 500 µl-t a hígított minta-konjugátum keverékből a *Membrán Eszköz* ***Minta Well-jébe*** (kisebb lyuk az eszköz jobb felső sarkában), gondoskodva arról, hogy a folyékony mintát a *Membráneszköz* belsejében lévő felszívó párnára juttassa. Amikor a mintát betölti a minta wellbe, gondoskodjon arról, hogy a transzferpipetta hegye a *Reakcióablak* (nagyobb lyuk az eszköz közepén) felé dőljön.
4. Inkubálja az eszközt szobahőmérsékleten 15 percig – a minta felszívódik az eszközön keresztül és a nedves terület szétterjed a *Reakcióablakon*.
   MEGJEGYZÉS AZON MINTÁKRA VONATKOZÓAN, AMELYEK MIGRÁCIÓJA SIKERTELEN:
   Bizonyos esetekben a hígított minta nem migrál megfelelően, és a Reakcióablak nem lesz teljesen nedves. Ha a Reakcióablak nem tűnik teljesen nedvesnek 5 percel azután, hogy a mintát a Minta Well-hez hozzáadták, adjon 100 µl (4 csepp) Hígítót a Minta Well-hez és várjon további 5 percet (összesen 20 percet).
5. Inkubáció után adjon 300 µl *Mosópuffert* a ***Reakcióablakhoz*** a fokbeosztásos fehér cseppentő szerelvény alkalmazásával. Hagyja, hogy a *Mosópuffer* átfolyjon a Reakcióablak membránján, és teljesen felszívódjon.
6. Adjon 2 csepp *Szubsztrátot* (fehér kupakos üveg) a ***Reakcióablakhoz***. Olvassa le és jegyezze fel az eredményeket szemrevételezés után 10 perc múlva.

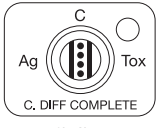
AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE

1. A teszt értelmezése akkor a legmegbízhatóbb, ha az eszközt azonnal leolvassák a 10 perces reakcióidő végén. A készüléket normál működési távolságban, jól megvilágított területen olvassa le. Közvetlenül az eszköz feletti látóvonal mentén tekintse meg.
2. Figyelje meg az eszközt, hogy nem jelennek-e meg kék pontok a *Reakcióablak* közepén, amely a belső pozitív kontrollt képviseli. Bármilyen kontroll pont(ok) megjelenése érvényes belső kontrollt képvisel. A háttér színe fehértől világoskékig terjedhet. Figyelje meg az eszközt, hogy nem jelennek-e meg kék vonalak a *Reakcióablak* "Ag" vagy "Tox" oldalain, amelyek a tesztvonalakat képviselik A vonalak intenzitása halványtól sötétig terjedhet.
3. **Pozitív Antigén ("Ag") Eredmény:** A pozitív antigén eredmény értelmezhető bármikor a *Szubsztrát* hozzáadása és a 10 perces leolvasási időpont között. Pozitív antigén eredmény esetén a zöld "Ag" vonal és a "C" alatti szaggatott kék kontrollvonal látható (1a ábra). A vonalak intenzitása halványtól sötétig terjedhet. A feltűnő részleges vonal pozitív eredményként értelmezendő. Ne értelmezze a membrán elszíneződését pozitív eredményként. A pozitív eredmény a *C. difficile* jelenlétét mutatja.
4. **Pozitív Antigén és Toxin ("Tox") Eredmény:** Ha az antigén eredmény pozitív (azaz kék "Ag" vonal és szaggatott kék kontrollvonal látható a "C" alatt), folytassa a toxin eredmény értelmezésével. A pozitív toxin eredmény értelmezhető bármikor a *Szubsztrát* hozzáadása és a 10 perces leolvasási időpont között. Pozitív toxin eredmény esetében kék "Tox" vonal látható (1b ábra). A vonal intenzitása halványtól sötétig terjedhet. A feltűnő részleges vonal pozitív eredményként értelmezendő. Ne értelmezze a membrán elszíneződését pozitív eredményként. A pozitív eredmény a *C. difficile* toxin jelenlétét mutatja.
5. **Negatív Eredmény:** A teszt nem értelmezhető negatívként vagy érvénytelenként a *Szubsztrát* hozzáadását követő 10 percig. Egyetlen kék szaggatott vonal látható a *Reakcióablak*, közepén a "C" alatt és nem látható tesztvonal a *Reakcióablak* "Ag" vagy "Tox" oldalán (1c ábra). Az antigén részben lévő negatív eredmény azt jelzi, hogy a *C. difficile* vagy nincs jelen a mintában vagy a teszt kimutatási határa alatt van. A toxin részben lévő negatív eredmény azt jelzi, hogy a C. difficile toxin vagy nincs jelen a mintában vagy a teszt kimutatási határa alatt van.
6. **Érvénytelen Eredmény:** Nem látható vonal a Reakcióablakban (1d ábra). A teszteredmény érvénytelen, ha a kék szaggatott vonal nincs jelen a "C" alatt a reakcióidő befejeződésekor (1e, 1f, 1g ábra).
7. **Negatív Antigén ("Ag"), Pozitív Toxin ("Tox").** A minták alacsony százalékos hányada negatív teszteredményt mutathat az antigénre de pozitívat a toxinra vonatkozóan. E mintákat bizonytalannak kell tekinteni, majd friss mintával újra kell tesztelni (1h ábra). Ha a minta újratesztelséskor negatívnak bizonyul az antigénre, de pozitívnak a toxinra vonatkozóan, pozitív toxin eredményként kell jegyzőkönyvezni.

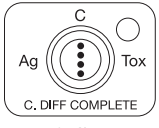
1. ÁBRA: *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE



1a ábra
Pozitív Antigén Eredmény

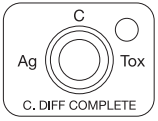


1b ábra
Pozitív Antigén
és Toxin Eredmény

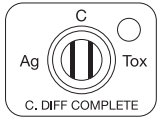


1c ábra
Negatív Eredmény

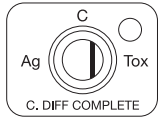
For Instructional Purposes Only



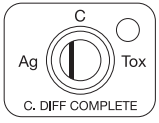
1d ábra
Érvénytelen Eredmény



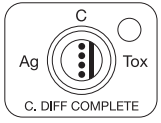
1e ábra
Érvénytelen Eredmény



1f ábra
Érvénytelen Eredmény



1g ábra
Érvénytelen Eredmény



1h ábra
Az értelmezést lásd a 7. pontban

MINŐSÉGELLENŐRZÉS

Belső: Szaggatott kék vonalnak kell látszódnia a *Reakcióablak* közepén a "C" alatt, minden tesztelt *Membráneszköz* alatt. A kék kontrollpontok megjelenése igazolja, hogy a mintát és a reagenseket megfelelően adták hozzá, és hogy a reagensek aktívak voltak az assay elvégzése idején, valamint, hogy a minta megfelelően átmigrált a *Membráneszközön*. Továbbá megerősíti az assay-vel kapcsolatos többi reagens reaktivitását. Az eredmények területén lévő egynemű háttér belső negatív kontrollként tekintendő. Ha a tesztet helyesen végezték és a reagensek megfelelően működnek, a háttér fehér lesz, hogy észrevehető eredményt adjon.

Külső: A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® készlet reaktivitását ellenőrizni kell átvételkor a *Pozitív Kontroll* és a negatív kontroll (*Hígító*) használatakor. A *Pozitív Kontroll* a készlethez van mellékelve (szürke kupakos üveg). A *Pozitív Kontroll* igazolja az assay-vel kapcsolatos többi reagens reaktivitását, és nem rendeltetése, hogy biztosítsa a precizitást az analitikai assay cut-off értékénél. A *Hígító* negatív kontroll céljára használatos. További tesztek végezhetők a kontrollokkal, hogy eleget tegyenek a helyi, állami és/vagy szövetségi szabályozásoknak és/vagy az akkreditáló szervezeteknek.

KORLÁTOZÁSOK

1. A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt a C. difficile antigén és toxin(ok) detektálására használatos székletmintákban. A teszt igazolja a toxin jelenlétét a székletben, és ezt az információt figyelembe kell vennie az orvosnak a páciens klinikai kórtörténete és fizikális vizsgálata fényében. A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®az A toxint ≥0,63 ng/ml, a B toxint ≥0,16 ng/ml,és a glutamát-dehidrogenázt ≥0,8 ng/ml szinteken mutatja ki.
2. A székletminták rendkívül komplexek. A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszttel optimális eredmények olyan mintákkal érhetők el, amelyek 24 óránál újabbak. A legtöbb hígítatlan minta tárolható 2°C és 8°C között 72 órán át, mielőtt a toxin jelentős bomlása figyelhető meg. Ha a mintákat nem vizsgálják meg ezen időszakon belül, ezek lefagyaszthatók, majd felolvaszthatók. Azonban, az ismételt lefagyasztás és felolvasztás az antigén, valamint az A és B toxinok immunreaktivitásának elvesztését eredményezi.
3. Bizonyos minták gyenge reakciókat adnak. Ezt számos tényező okozhatja, mint például alacsony szintű antigén és/vagy toxin jelenléte, a kötőanyagok vagy inaktiváló enzimek jelenléte a székletben. A vonalak intenzitása halványától sötétig terjedhet. Ezeket a mintákat pozitívként kell jegyzőkönyvezni, ha bármilyen kék vonal jelenik meg (még, ha részleges is). A feltűnő részleges kék vonal pozitív eredményként értelmezendő.
4. A 10%-os formalinban, mertiolát-formalinban, nátrium-acetát formalinban vagy polivinil-alkoholban tartósított székletminták nem használhatók.
5. A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt kvalitatív. A szín intenzitása nem értelmezhető kvantitatív módon.
6. A *C. sordellii* néhány izolátuma reagálhat a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt során az immunológiailag kapcsolódó toxinok termelődése miatt (1).
7. Csecsemőkben akár 50%-os kolonizációs arányokról számoltak be. Magas arányról számoltak be a cisztás fibrózisban szenvedő betegekben (1,3). Az eredmények pozitívként jelentkezhetnek e csoportokban, de ezeket úgy kell tekinteni, mint potenciális kolonizált hordozókat.
8. Az egyetlen nem-*C. difficile* organizmus, amely reagál a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt toxin részében a *Clostridium sordellii* VPI 9048 volt. Ez a törzs a HT és az LT toxinokat termeli, amelyek az A ill. B toxinokra vonatkozóan homológok.
9. Semmilyen adat nem létezi a vastagbélmosásoknak, báriumbeöntéseknek, hashajtóknak vagy vastagbélkészítményeknek a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt teljesítményére gyakorolt hatására vonatkozóan. Ezen eljárások mindegyike nagymértékű hígulást okozhat vagy olyan adalékanyagok jelenlétét eredményezheti, amely befolyásolhatja a teszt teljesítményét.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A *Clostridium difficile* elsősorban nozokomiális betegség idős páciensekben, és a betegség gyakorisága olyan tényezőktől függ, mint a betegpopuláció, az intézmény típusa és az epidemiológia. A *C. difficile* betegség bejelentett előfordulási gyakorisága antibiotikumokkal kapcsolatos hasmenésben szenvedő páciensekben 5-től 20%-ig terjedhet, és a kórházakban e tartománynál alacsonyabb vagy magasabb értékek is jelentkezhetnek. Fontos figyelembe venni bármilyen teszteredményt a klinikai tünetekkel kapcsolatban, mivel néhány egészséges felnőtt és nagy számú egészséges csecsemő (akár 50%-os arányban is) pozitív eredményt mutat a *C. difficile* toxinra vonatkozóan. Továbbá, 22%-tól 32%-ig terjedő *C. difficile* hordozási arányokról számoltak be a cisztás fibrózisban szenvedő betegekben (1,3). A jelen eszközre vonatkozóan tüneteket mutató betegekkel végzett vizsgálatok során az A és B toxin előfordulása 12%, a GDH előfordulása 18% volt. A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt antigén részének pozitív eredménye megerősíti a *C. difficile* jelenlétét a székletmintában; a negatív eredmény az organizmus hiányát jelzi. A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt antigén részének pozitív eredménye megerősíti a *C. difficile* toxin jelenlétét a székletmintában; a negatív eredmény a toxin hiányát jelzi, vagy azt, hogy nem áll rendelkezésre a kimutatáshoz elegendő koncentrációban.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt antigén részének klinikai értékelése

A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt antigén részét baktériumkultúrához hasonlították. A kiértékelésben szereplő mintákat klinikai laboratóriumokba küldték be rutin tesztelés céljára. A bakteriális kultúra tesztjét házon belüli eljárásokkal végezték. Az eredményeket az 1. táblázat mutatja

Instruction Only

1. táblázat A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt és a bakteriális kultúra összehasonlításának klinikai teljesítménye

n = 1126	Bakteriális Kultúra Pozitív	Bakteriális Kultúra Negatív
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigén Vonal Pozitív	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigén Vonal Negatív	21	842

		95% Konfidenciahatárok
Érzékenység	90,5%	85,7 – 93,9
Specificitás	93,1%	91,2 – 94,7
Prediktív Pozitív Érték	76,4%	70,7 – 81,3
Prediktív Negatív Érték	97,6%	96,2 – 98,4
Korreláció	92,6%	91,8 – 93,4

Az eltérő mintákat a *C. difficile* glutamát-dehidrogenázra vonatkozó aktuális ELISA tesztek alkalmazásával értékelték.
A 62 álpozitív mintából huszonkilenc pozitív volt egy másik GDH teszt során, és ezeket valódi pozitívnak tekintették.
A 21 álnegatív mintából tizenhárom negatív volt egy másik GDH teszt során, és ezeket valódi negatívnak tekintették.

A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® tesztet a szövetkultúra assay-hez hasonlították a C. difficile toxin kimutatására vonatkozóan. A kiértékelésben szereplő mintákat klinikai laboratóriumokba küldték be rutin tesztelés céljára. Az eredményeket a 2. táblázat mutatja. A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® a szövetkultúra pozitív mintáinak 98,7%-át kimutatta.

2. táblázat A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt és a szöveti kultúra assay összehasonlításának klinikai teljesítménye

n = 1126	Szöveti Kultúra Pozitív	Szöveti Kultúra Negatív
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigén Vonal Pozitív	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigén Vonal Negatív	2	861

A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt toxin részének klinikai értékelése
A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt toxin részét összehasonlították a szövetkultúra assay-vel két klinikai laboratóriumban és házon belül a TECHLAB, Inc vállalatnál. A kiértékelésben szereplő mintákat klinikai laboratóriumokhoz juttatták el rutin tesztelés céljára. Az eredményeket az 3. táblázat mutatja

3. táblázat A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt és a szöveti kultúra assay összehasonlításának klinikai teljesítménye

n = 1126	Szöveti Kultúra Pozitív	Szöveti Kultúra Negatív
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxin Vonal Pozitív	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxin Vonal Negatív	19	964

		95% Konfidenciahatárok
Érzékenység	87,8%	81,4 - 92,3
Specificitás	99,4%	98,6 - 99,7
Prediktív Pozitív Érték	95,8%	90,7 - 98,3
Prediktív Negatív Érték	98,1%	96,9 - 98,8
Korreláció	97,8%	97,6 - 98,0

Az eltérő mintákat az A és B toxinokra vonatkozó aktuális ELISA tesztek alkalmazásával értékelték.
A 6 álpozitív mintából öt pozitív volt az ELISA során, és ezeket valódi pozitívnak tekintették.
A 19 álnegatív mintából tizenkettő negatív volt egy ELISA teszt során, és ezeket valódi negatívnak tekintették.

A SZÉKLETMINTA KONZISZTENCIÁJÁNAK HATÁSA

A székletminta konzisztenciájának hatása a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® tesztre
A különböző konzisztenciájú székletminták reakcióját a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt antigén részében (n=978) és toxin részében (n=981) a 4. és az 5. táblázat mutatja. A kultúra assay vagy a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® alkalmazásával kapott pozitív reakciók százalékértékei hasonlóak voltak mindhárom típusú székletminta esetén (folyékony, félig szilárd és szilárd). Az összes mintát beküldték C. difficile tesztelés céljára. A beküldés alapja a beteg klinikai kórtörténete volt, és nem a minta konzisztenciája. Az antigén részben az eredmények azt mutatják, hogy a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt hasonló teljesítményt nyújtott, mint a baktériumkultúra a különböző konzisztenciájú minták tesztelésekor. A toxin részben az eredmények azt mutatják, hogy a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt hasonló teljesítményt nyújtott, mint a szövetkultúra assay a különböző konzisztenciájú minták tesztelésekor.

For Instructional Use Only

4. táblázat **Különböző konzisztenciájú székletminták reakciója az antigén részben a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt során.**

Minták száma (n = 978)	Folyékony Minták (n = 335)	Félig szilárd Minták (n = 522)	Szilárd Minták (n = 121)
Pozitív a bakteriális kultúra assay szerint	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigén Vonal Pozitív	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Negatív a bakteriális kultúra assay szerint	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigén Vonal Negatív	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

5. táblázat **Különböző konzisztenciájú székletminták reakciója a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt toxin részében.**

Minták száma (n = 981)	Folyékony Minták (n = 336)	Félig szilárd Minták (n = 523)	Szilárd Minták (n = 122)
Pozitív a szöveti kultúra assay szerint	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxin Vonal Pozitív	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Negatív a szöveti kultúra assay szerint	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxin Vonal Negatív	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

ANALITIKAI ÉRZÉKENYSÉG

Az assay cutoff értékét 0,63 ng/ml koncentrációban határozták meg az A toxinra, 0,16 ng/ml koncentrációban a B toxinra és 0,8 ng/ml koncentrációban a glutamát-dehidrogenázra vonatkozóan.

REPRODUKÁLHATÓSÁG

A *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt reprodukálhatóságát 12 olyan székletminta alkalmazásával határozták meg, amelyeket kódoltak, hogy megakadályozzák az azonosításukat a tesztelés során. A tesztelést 3 független laboratóriumban végezték el, amelyek a mintákat 3 napon át vizsgálták. A minták az esetek 100%-ában a várt eredményeket produkálták.

KERESZTREAKTIVITÁS

A következő mikroorganizmusokkal beoltott székletminták a ml-enként 10^8 vagy annál nagyobb számú végső organizmus-koncentráció esetén nem reagáltak a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt antigén- vagy toxin részével:

Baktérium vagy Patogén: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (nem toxigén), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Az egyetlen nem-*C. difficile* organizmus, amely reagál a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszt toxin részében, a *Clostridium sordellii* VPI 9048 volt. Ez a törzs a HT és az LT toxinokat termeli, amelyek az A ill. B toxinokra vonatkozóan homológok.

A következő vírusok 0,2 ml-enként $10^{3.3}$ - $10^{8.25}$ TCID egység értékekkel nem reagáltak a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® tesztben:

Vírusok: Adenovírus típusok: 1, 2, 3, 5, 40, 41, Human koronavírus, Coxsackievírus B2, B3, B4, B5, Echovírus 9, 11, 18, 22, 33, Enterovirus típus: 68, 69, 70, 71, Rotavírus.

ZAVARÓ ANYAGOK

A következő anyagok (USA-készítmény) nem gyakoroltak hatást a teszteredményekre, ha a jelzett koncentrációkban voltak jelen a székletben: mucin (3,5% w/v), emberi vér (40% v/v), bárium-szulfát (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), sztearinsav/palmitinsav (40% w/v), Metronidazole (0,25% w/v), Vancomycin (0,25% w/v).

KLINIKAI IZOLÁTUMOK CIKLOSZERIN-CEFOXITIN-FRUKTÓZ AGARON (CCFA) TÖRTÉNŐ REAKCIÓJA

Összesen 103 *C. difficile* klinikai izolátumot, amelyeket anaerob bakteriális kultúra révén nyertek CCFA-n 3 nap után 37°C-on, vizsgáltak a *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teszttel. Az analízis céljára egyedi kolóniákat választottak ki és szuszpendálták őket *Higítóban* a székletmintákra vonatkozóan ajánlott módon. Mind a 103 izolátum pozitív antigénreakciót adott a teszt során.

A 103 izolátumból hetven (68%) olyan székletmintából származott, amely pozitív volt a *C. difficile* toxinra vonatkozóan a szövetkultúra assay során. Ezek közül 56 (80%) pozitív toxinreakciót adott, amikor anaerob növekedés után vizsgálták CCFA-n 3 napon át 37°C-on.

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

FINALITA' DEL DOSAGGIO

Il test TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è un dosaggio immunoenzimatico rapido a membrana per il rilevamento simultaneo dell'antigene glutammato deidrogenasi e dalle tossine A e B di *Clostridium difficile* in un singolo pozzetto di reazione. Il test rileva l'antigene glutammato deidrogenasi di *C. difficile* quale screening per la presenza di *C. difficile* e conferma la presenza di *C. difficile* tossigeno rilevando le tossine A e B nei campioni fecali delle persone in cui si sospetti malattia da *C. difficile*. Il test deve essere usato come ausilio nella diagnosi di malattia da *C. difficile*. Come per gli altri test per il *C. difficile*, i risultati devono essere considerati insieme alla storia del paziente.

SPIEGAZIONE

In seguito al trattamento con antibiotici, molti pazienti sviluppano problemi gastrointestinali che vanno dalla diarrea lieve alla colite pseudomembranosa grave. Molti casi delle forme più lievi di malattia gastrointestinale e la maggior parte dei casi di colite pseudomembranosa sono causati da ceppi tossigeni di *Clostridium difficile* (1). Questo organismo è un batterio anaerobico opportunista che cresce nell'intestino una volta che la normale flora è stata alterata dall'antibiotico. I ceppi tossigeni di *C. difficile* trasportano i geni che codificano le tossine, mentre i ceppi non tossigeni non trasportano i geni delle tossine. L'esordio della malattia è associato alle tossine che vengono prodotte dagli organismi tossigeni. Si ritiene che i sintomi clinici associati alla malattia siano prevalentemente dovuti alla tossina A, che è un'enterotossina che danneggia i tessuti (2,3). Il *C. difficile* produce anche una seconda tossina, chiamata tossina B. La tossina B, che è stata indicata come la citotossina dell'organismo, è la tossina rilevata dal test di coltura tissutale attualmente usato da molti laboratori. I ceppi di *C. difficile* tossigeno producono entrambe le tossine o solo la tossina B (4-7). La glutammato deidrogenasi del *C. difficile* è un buon marker antigenico dell'organismo nelle feci in quanto è prodotta in elevate quantità da tutti i ceppi, sia quelli tossigeni sia quelli non tossigeni (8-10). L'antigene può essere rilevato nei campioni fecali utilizzando il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Un risultato positivo al test della glutammato deidrogenasi del *C. difficile* conferma la presenza di questo organismo nei campioni fecali; un risultato negativo indica l'assenza dell'organismo. Un risultato positivo al test per le tossine A e B conferma la presenza di *C. difficile* tossigeno.

PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* utilizza anticorpi specifici per la glutammato deidrogenasi e le tossine A e B del *C. difficile*. Il dispositivo contiene una finestra di reazione con tre linee verticali di anticorpi immobilizzati. La linea di test dell'antigene ("Ag") contiene anticorpi contro la glutammato deidrogenasi *C. difficile*. La linea di controllo ("C") è una linea punteggiata che contiene anticorpi anti-perossidasi di rafano (HRP). La linea delle tossine A e B ("Tox") contiene anticorpi contro le tossine A e B di *C. difficile*. Il *coniugato* comprende anticorpi alla glutammato deidrogenasi e anticorpi alle tossine A e B accoppiate a perossidasi di rafano. Per eseguire il test, il campione viene dispensato in una provetta contenente una miscela di *diluente* e *coniugato*. La miscela di campione diluito e coniugato viene dispensata nel *pozzetto del campione* e il dispositivo viene lasciato ad incubare a temperatura ambiente per 15 minuti. Durante l'incubazione, qualsiasi glutammato deidrogenasi e tutte le tossine A e B presenti nel campione si legano ai coniugati anticorpo-perossidasi. I complessi antigene-anticorpo-coniugato migrano attraverso un tampone filtrante su una membrana dove vengono catturati dagli anticorpi immobilizzati specifici per la deidrogenasi e specifici per le tossine A e B nelle linee. La *finestra di reazione* viene quindi risciacquata con *tampone di lavaggio* a cui segue l'aggiunta di *substrato*. Dopo un periodo di incubazione di 10 minuti, la regione "Ag" viene esaminata visivamente e viene verificata la comparsa di una linea verticale blu sul lato "Ag" della *finestra di reazione*. Una linea blu indica un test positivo. Se l'"Ag" è positivo, è necessario esaminare la reazione "Tox" per controllare se compare una linea blu sul lato "Tox" della *finestra di reazione*. Una linea blu indica un test positivo. Una reazione "C" positiva, indicata da una linea blu verticale punteggiata sotto la parte "C" della *finestra di reazione*, conferma che il test sta funzionando correttamente e che i risultati sono validi.

MATERIALI FORNITI

MEM | DEV — ***Dispositivi a membrana*** – Ogni busta contiene 1 dispositivo

DIL | SPE — ***Diluente* (22 mL per flacone)** – Soluzione proteica tamponata con contagocce graduato (contiene lo 0,05% di ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Tampone di lavaggio* (12 mL per flacone)** – Soluzione tamponata con contagocce graduato (contiene lo 0,05% di ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Substrato* (3,5 mL per flacone)** – Soluzione contenente tetrametilbenzidina

CONJ | ENZ — ***Coniugato* (2,5 mL per flacone)** – Anticorpo specifico per la glutammato deidrogenasi accoppiato a perossidasi di rafano e anticorpi specifici per le tossine A e B accoppiati a perossidasi di rafano in una soluzione proteica tamponata (contiene lo 0,05% di ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Controllo positivo* (2 mL)** – Antigene in una soluzione proteica tamponata

Pipette di trasferimento in plastica monouso – graduate a 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL e 500 µL

IVD — Per uso diagnostico *in vitro*

*Parola d'avviso: Avvertenza
H317: Può causare una reazione allergica sulla pelle
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATERIALI E APPARECCHIATURE RICHIESTI MA NON FORNITI

Provette piccole (p.es., provette per microcentrifuga in plastica o provette in vetro)
Stick applicatori — *Timer* — *Vorticatore*
Guanti monouso per la manipolazione dei campioni fecali — *Pipettatore e puntali*

VITA UTILE E CONSERVAZIONE A MAGAZZINO

La data di scadenza del kit è stampata sull'etichetta. Le date di scadenza di ciascun componente sono indicate sulle rispettive etichette. Il kit deve essere conservato a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C.

PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.
2. Non miscelare e scambiare reagenti di kit diversi. Non utilizzare un kit dopo la data di scadenza.
3. Ogni componente del kit deve essere controllato per rilevare eventuali segni di perdita. All'arrivo, controllare il kit per assicurarsi che i componenti non siano né congelati né caldi al tatto a causa di condizioni di spedizione inadeguate.
4. Portare tutti i componenti a TEMPERATURA AMBIENTE PRIMA DELL'USO!
5. I cappucci, i puntali e i contagocce seguono un codice colore; NON mischiarli o scambiarli!
6. Non congelare i reagenti. Il kit deve essere conservato a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C.

Professional Use Only

7. Prima dell'apertura, la busta contenente il *dispositivo a membrana* deve essere a temperatura ambiente. Prima dell'uso conservare i dispositivi a membrana all'asciutto.
8. Per ottenere i risultati ottimali, utilizzare i campioni fecali entro 72 ore dalla raccolta. I campioni congelati possono perdere attività in seguito al congelamento e allo scongelamento. Se si utilizzano campioni scongelati, lasciarli scongelare a temperatura ambiente.
9. Dispensare i reagenti tenendo i flaconi in posizione verticale in modo da garantire una dimensione costante delle gocce e un volume corretto.
10. I campioni e i dispositivi a membrana devono essere manipolati e smaltiti come materiale biologico potenzialmente infetto dopo l'uso.
11. I dispositivi a membrana non possono essere riutilizzati.
12. Il test è stato ottimizzato per quanto concerne la sensibilità e la specificità. Eventuali alterazioni della procedura specificata e/o delle condizioni di test possono influenzare la sensibilità e la specificità del test. Non deviare dalla procedura specificata.
13. Prestare attenzione al tempo totale di dosaggio quando si analizza più di un campione fecale. Dispensare dapprima il *diluente*, quindi aggiungere il *coniugato* a ogni provetta di *diluente*. Quindi dispensare il campione nella provetta di *diluente*/*coniugato*. Miscelare accuratamente tutti i campioni diluiti e trasferirli nel *dispositivo a membrana*. La fase di incubazione di 15 minuti comincia dopo che l'ultima miscela di campione diluito-coniugato è stata trasferita nel *dispositivo a membrana* finale.
14. Se il reagente *substrato* assume un colore blu scuro/viola, contattare il servizio tecnico e chiedere la sostituzione.
15. I campioni fecali possono contenere agenti potenzialmente infettivi e devono essere maneggiati al "Livello di biosicurezza 2" come raccomandato nel manuale del CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories."
16. Durante il test, indossare guanti *monouso.*
17. I reagenti *coniugato, diluente* e *tampone di lavaggio* contengono ProClin® 300 allo 0,05% come conservante. Benché la concentrazione sia bassa, è noto che ProClin® 300 è dannoso (può verificarsi sensibilizzazione cutanea). In caso di sensibilizzazione/irritazione o rash cutaneo, rivolgersi a un medico. Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli. Manipolare i reagenti attenendosi alle disposizioni vigenti in materia di sicurezza e buone pratiche di laboratorio. Le schede tecniche di sicurezza per questo prodotto sono disponibili su richiesta; rivolgersi all'assistenza tecnica.
18. Attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali per quanto riguarda lo smaltimento dei rifiuti.

RACCOLTA, CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI FECALI

Tipi di campioni accettabili	Non usare
Campioni fecali freschi	Campioni fecali in un fissativo a base di formalina (p.es. formalina di sodio acetato, formalina al 10%, mertiolato e formalina)
Campioni fecali congelati	Campioni fecali in un fissativo a base di alcol (p.es. alcol polivinilico)
Campioni in mezzi di trasporto (Cary Blair, C&S)	

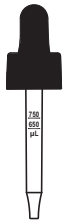
Conservazione dei campioni Temperatura	Durata di conservazione accettabile	Commenti
2° – 8°	72 ore	I campioni ideali hanno meno di 24 ore
Congelato ≤ -10°C	Più di 72 ore	Scongelare a temperatura ambiente. Il congelamento e lo scongelamento ripetuti possono comportare una perdita dell'attività dei campioni in seguito a degradazione delle tossine.

1. Le procedure di raccolta e manipolazione standard utilizzate internamente per i campioni fecali sono appropriate.
2. I campioni di feci devono essere raccolti in contenitori di puliti, ermetici.
3. La conservazione dei campioni di feci nel *diluente* NON è consigliata.
4. Non lasciare i campioni nella miscela di *diluente*/*coniugato* per >24 ore.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

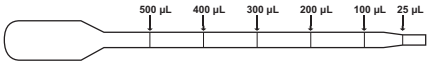
1. Portare tutti i reagenti e il numero di dispositivi richiesto a temperatura ambiente prima dell'uso. Si raccomanda di rimuovere i reagenti dall'inserto in espanso per ridurre il tempo necessario per il riscaldamento a temperatura ambiente.
2. Preparare ed etichettare una provetta piccola per ogni campione e i controlli esterni opzionali in base alla necessità.
3. Utilizzando un contagocce graduato nero, dispensare 750 µL (2° graduazione sul puntale) di *diluente* in ogni provetta per campioni fecali. **Per i campioni nei mezzi di trasporto come Cary Blair o C&S, dispensare 650 µL (1° graduazione dalla punta) di *diluente* nella provetta.**

Tipo di campione	Volume di *diluente*
Campioni fecali freschi	750 µL (2° graduazione sul puntale)
Campioni fecali congelati (congelati non diluiti)	750 µL (2° graduazione sul puntale)
Campioni in mezzi di trasporto (Cary Blair, C&S)	650 µL (1° graduazione dalla punta)
Controlli esterni (positivo e negativo)	750 µL (2° graduazione sul puntale)



4. Dispensare una goccia di *coniugato* (flacone con tappo rosso) in ogni provetta.
5. Preparare una pipetta di trasferimento in plastica monouso (fornita con il kit) per ogni campione – le pipette hanno graduazioni in rilievo in corrispondenza di 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL e 500 µL.

Pipetta di trasferimento graduata:



6. **Miscelare accuratamente tutti i campioni, indipendentemente dalla consistenza - è fondamentale che i campioni siano uniformemente sospesi prima del trasferimento.** Campioni liquidi/semi-solidi – pipettare 25 µL di campione con una pipetta di trasferimento e dispensare nella miscela di *diluente*/*coniugato*. Utilizzare la stessa pipetta di trasferimento per miscelare i campioni diluiti.

For Instructional Use Only

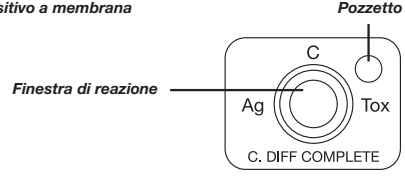
Campioni formati/solidi – Occorre prestare attenzione e dispensare la quantità corretta di feci formate nella miscela del campione. Miscelare accuratamente il campione utilizzando uno stick in legno e trasferire una piccola porzione (circa 2 mm di diametro, l'equivalente di 25 µL) del campione nella miscela di diluente/coniugato. Emulsionare i campioni utilizzando lo stick.
Campioni fecali nei mezzi di trasporto Cary Blair o C&S - pipettare 100 µL (2a graduazione dal puntale della pipetta di trasferimento) di campione nella miscela di *diluente/coniugato*.

7. **Campioni di controllo esterni opzionali:**
Controllo positivo esterno - dispensare una goccia di *controllo positivo* (flacone con il cappuccio grigio) nella miscela di *diluente/coniugato*.
Controllo negativo esterno - dispensare 25 µL di *diluente* nella miscela di *diluente/coniugato*.

NOTA: il trasferimento di una quantità insufficiente di campione o la mancata miscelazione e sospensione completa del campione nella miscela di diluente/coniugato possono dare un risultato falsamente negativo. La dispensazione di una quantità eccessiva di campione può causare risultati non validi a causa del flusso di campione limitato.

PROCEDURA DEL TEST

1. Prendere un *dispositivo a membrana* per campione e un dispositivo per controllo positivo o negativo esterno opzionale, in base alla necessità. Le buste in alluminio contenenti i dispositivi devono essere portate a temperatura ambiente prima dell'apertura. Utilizzare il dispositivo immediatamente dopo l'apertura. Etichettare ogni dispositivo in modo appropriato e orientarlo su una superficie piana in modo che la scritta "C. DIFF COMPLETE" si trovi sul fondo del dispositivo e il piccolo pozzetto per il campione si trovi nell'angolo in alto a destra del dispositivo.



2. Chiudere ogni provetta di campione diluito e miscelare accuratamente. L'accurata miscelazione può essere ottenuta mediante vorticazione o capovolgendo la provetta. Dopo che il campione o il *controllo positivo* è stato diluito nella miscela di *diluente/coniugato*, lo stesso può essere incubato a temperatura ambiente per un periodo di tempo fino a 24 ore prima di dispensarlo nel *dispositivo a membrana*.
3. Utilizzando la pipetta di trasferimento, trasferire 500 µL della miscela diluita di campione-coniugato nel ***pozzetto del campione*** (foro piccolo nell'angolo in alto a destra del dispositivo) di un *dispositivo a membrana*, assicurandosi di espellere il campione di liquido su un tampone di drenaggio all'interno del *dispositivo a membrana*. Durante il caricamento del campione nel pozzetto per campioni, assicurarsi che la punta della pipetta di trasferimento sia rivolta verso la *finestra di reazione* (foro più grande al centro del dispositivo).
4. Incubare il dispositivo a temperatura ambiente per 15 minuti – il campione drenerà attraverso il dispositivo e un'area umida si diffonderà attraverso la *finestra di reazione*.
NOTA PER I CAMPIONI CHE NON MIGRANO:
può accadere che un campione diluito non migri correttamente e che la finestra di reazione non si inumidisca completamente. Se la finestra di reazione non sembra essere completamente umida entro 5 minuti dalla dispensazione del campione nel pozzetto del campione, dispensare 100 µL (4 gocce) di diluente nel pozzetto del campione e attendere altri 5 minuti (per un totale di 20 minuti).
5. Dopo l'incubazione, aggiungere 300 µL di *tampone di lavaggio* alla ***finestra di reazione*** utilizzando il contagocce bianco graduato. Lasciare che il *tampone di lavaggio* fluisca attraverso la membrana della finestra di reazione e venga completamente assorbito.
6. Dispensare 2 gocce di *substrato* (flacone con cappuccio bianco) alla ***finestra di reazione***. Leggere e registrare visivamente i risultati dopo 10 minuti.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

1. L'interpretazione del test è più affidabile quando il dispositivo viene letto immediatamente dopo lo scadere del periodo di reazione di 10 minuti. Leggere il dispositivo a una distanza di lavoro normale in un'area ben illuminata. Osservare con una linea d'osservazione direttamente sul dispositivo.
2. Osservare se nel dispositivo al centro della *finestra di reazione* compaiono punti blu che rappresentano il controllo positivo interno. La comparsa di punti di controllo indica un controllo interno valido. Lo sfondo può avere un colore da bianco ad azzurro. Osservare se sui lati "Ag" e "Tox" della *finestra di reazione* compaiono linee blu che rappresentano le linee di test. Le linee possono avere un'intensità da debole a scura.
3. **Risultato con antigene positivo ("Ag"):** un risultato con antigene positivo può essere interpretato in qualunque momento tra la dispensazione del *substrato* e il tempo di lettura di 10 minuti. In un risultato con antigene positivo, la linea "Ag" blu e la linea di controllo blu punteggiata sotto "C" sono visibili (Figura 1a). Le linee possono avere un'intensità da debole a scura. Una linea parziale evidente viene interpretata come un risultato positivo. Non interpretare un'alterazione di colore della membrana come un risultato positivo. Un risultato positivo indica la presenza di *C. difficile*.
4. **Risultato con antigene e tossina ("Tox") positivi:** se il risultato dell'antigene è positivo (ovvore sotto la "C" sono visibili una linea "Ag" blu e un controllo blu punteggiato), procedere all'interpretazione del risultato delle tossine. Un risultato positivo per le tossine può essere interpretato in qualunque momento tra la dispensazione del *substrato* e il tempo di lettura di 10 minuti. In un risultato positivo per le tossine, è visibile una linea blu "Tox" (Figura 1b). La linea può avere un'intensità da debole a scura. Una linea parziale evidente viene interpretata come un risultato positivo. Non interpretare un'alterazione di colore della membrana come un risultato positivo. Un risultato positivo indica la presenza di tossina *C. difficile*.
5. **Risultato negativo:** un test non può essere interpretato come negativo o non valido fino a 10 minuti dopo la dispensazione del *substrato*. Sotto la "C" al centro della *finestra di reazione* è visibile una singola linea punteggiata blu e sul lato "Ag" o "Tox" della *finestra di reazione* non sono visibili linee di test (Figura 1c). Un risultato negativo nella porzione dell'antigene indica che l'antigene *C. difficile* è assente nel campione oppure è al di sotto del limite di rilevazione del test. Un risultato negativo nella porzione della tossina indica che la tossina C. difficile è assente nel campione oppure è al di sotto del limite di rilevazione del test.
6. **Risultato non valido:** non sono visibili linee nella finestra di reazione (Figura 1d). Il risultato del test non è valido se al termine del periodo di reazione non è presente una linea punteggiata blu sotto la "C" (Figure 1e, 1f, 1g).
7. **Antigene negativo ("Ag"), tossina positiva ("Tox"):** una percentuale ridotta di campioni può risultare negativa all'antigene ma positiva alla tossina. Questi campioni devono essere considerati come indeterminati e sottoposti nuovamente a test con un campione fresco (Figura 1h). Se il campione risulta nuovamente negativo per l'antigene ma positivo per la tossina, segnalare il risultato come positivo per la tossina.

For instructional use only

FIGURA 1: INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

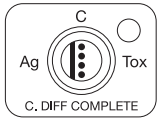


Figura 1a
Risultato con antigene positivo

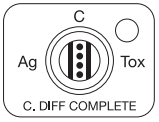


Figura 1b
Risultato con antigene e tossina positivi

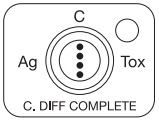


Figura 1c
Risultato negativoi

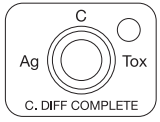


Figura 1d
Risultato non valido

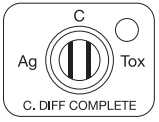


Figura 1e
Risultato non valido

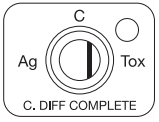


Figura 1f
Risultato non valido

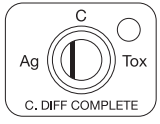


Figura 1g
Risultato non valido

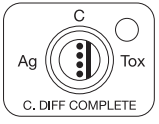


Figura 1h
Per l'interpretazione vedere il n,7

CONTROLLO DELLA QUALITÀ

Interno: deve essere visibile una linea punteggiata blu al centro della *finestra di reazione*, sotto la "C" su ogni *dispositivo a membrana*sottoposto a test. La comparsa dei punti di controllo blu conferma che il campione e i reagenti sono stati dispensati correttamente, che i reagenti erano attivi al momento dell'esecuzione del dosaggio e che il campione è migrato correttamente attraverso il *dispositivo membrana*. Inoltre conferma la reattività degli altri reagenti associati al dosaggio. Uno sfondo uniforme nell'area dei risultati viene considerato come un controllo negativo interno. Se il test è stato eseguito correttamente e i reagenti funzionano a dovere, lo sfondo sarà bianco per consentire un risultato discernibile.
Esterno: la reattività del kit *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* deve essere verificata al ricevimento mediante il *controllo positivo* e il controllo negativo (*diluente*). Il *controllo positivo* viene fornito insieme al kit (flacone con il cappuccio grigio). Il *controllo positivo* conferma la reattività degli altri reagenti associati al dosaggio e non è concepito per garantire la precisione sul valore di cut-off del dosaggio analitico. Il *diluente* viene usato per il controllo negativo. È possibile eseguire altri test con controlli per soddisfare i requisiti delle disposizioni locali, statali e/o federali e/o delle organizzazioni accreditanti.

LIMITI

1. Il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* viene usato per individuare l'antigene e le tossine C. difficile nei campioni fecali. Il test conferma la presenza di tossine nelle feci e queste informazioni devono essere tenute in debito conto dal medico alla luce dell'anamnesi clinica e dell'esame obiettivo del paziente. Il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* rileva livelli di tossina A a ≥0,63 ng/mL, di tossina B a ≥0,16 ng/mL e di glutammato deidrogenasi a ≥0,8 ng/mL.
2. I campioni fecali sono estremamente complessi. I risultati ottimali con il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* si ottengono con campioni non più vecchi di 24 ore. La maggior parte dei campioni non diluiti possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C per 72 ore prima che si noti una degradazione significativa della tossina. Se i campioni non vengono testati entro questo periodo di tempo, possono essere congelati e scongelati. Tuttavia il ripetuto congelamento e scongelamento può comportare la perdita di immunoreattività dell'antigene e delle tossine A e B.
3. Alcuni campioni possono produrre reazioni deboli. Questa evenienza può essere dovuta a una serie di fattori come la presenza di bassi livelli di antigene e/o tossina, la presenza di sostanze leganti o enzimi inattivanti nelle feci. Le linee possono avere un'intensità da debole a scura. Questi campioni devono essere segnalati come positivi se si osserva qualsiasi linea blu, anche parziale. Una linea blu parziale evidente viene interpretata come un risultato positivo.
4. I campioni fecali conservati in formalina al 10%, mertiolato e formalina, formalina di sodio acetato o alcol polivinilico non possono essere utilizzati.
5. Il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è un test qualitativo. L'intensità del colore non deve essere interpretata in modo quantitativo.
6. Alcuni ceppi isolati di *C. sordellii* possono reagire nel test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* a causa della produzione di tossine immunologicamente correlate (1).
7. Tassi di colonizzazione fino al 50% sono stati riferiti nei lattanti. Un tasso elevato è stato riferito anche nei pazienti con fibrosi cistica (1,3). In questi gruppi i risultati possono sembrare positivi, ma devono considerati insieme alla possibilità di essere un vettore colonizzato.
8. L'unico organismo non-*C. difficile* a reagire nella porzione della tossina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è stato il *Clostridium sordellii* VPI 9048. Questo ceppo produce tossine HT e LT, che sono rispettivamente omologhe alle tossine A e B.
9. Non esistono dati sull'effetto dei lavaggi del colon, degli enemi al bario, dei lassativi o delle preparazioni intestinali sulle prestazioni del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Tutte queste procedure possono causare un'estesa diluizione o la presenza di additivi che possono influenzare le prestazioni del test.

VALORI ATTESI

La malattia da *Clostridium difficile* è prevalentemente una malattia di tipo nosocomiale dei pazienti anziani e la frequenza dipende da fattori come la popolazione di pazienti, il tipo di istituto e l'epidemiologia. L'incidenza riferita di malattia da *C. difficile* nei pazienti con diarrea associata agli antibiotici può variare dal 5 % al 20% e gli ospedali possono sperimentare tassi inferiori o superiori a questo intervallo. È importante considerare tutti i risultati dei test tenendo conto dei sintomi clinici in quanto alcuni adulti sani e un numero elevato di lattanti sani (fino al 50%) risulteranno positivi alla tossina *C. difficile*. Inoltre, sono stati riferiti tassi di portatori di *C. difficile* tra il 22% e il 32% nei pazienti con fibrosi cistica (1,3). Negli studi condotti per questo dispositivo utilizzando pazienti sintomatici l'incidenza di tossine A e B è risultata pari al 12% e di GDH al 18%. Un risultato positivo nella porzione dell'antigene del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* conferma la presenza di *C. difficile* in un campione fecale; un risultato negativo indica l'assenza dell'organismo. Un risultato positivo nella porzione della tossina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* conferma la presenza di tossina di *C. difficile* in un campione fecale; un risultato negativo indica l'assenza dell'organismo o livelli di tossina insufficienti per essere rilevati.

Instructional Copy

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Valutazione clinica della porzione dell'antigene del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

La porzione dell'antigene del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è stata confrontata con la coltura batterica. I campioni inclusi nella valutazione sono stati inviati ai laboratori clinici per l'analisi di routine. La coltura batterica è stata eseguita in base alle procedure interne. I risultati sono presentati nella Tabella 1.

Tabella 1. Riepilogo delle prestazioni cliniche con confronto tra il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* e la coltura batterica

n = 1126	Coltura batterica Positivo	Coltura batterica Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea dell'antigene positiva	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea dell'antigene negativa	21	842

		Limiti di confidenza 95%
Sensibilità	90,5%	85,7 – 93,9
Specificità	93,1%	91,2 – 94,7
Valore positivo predittivo	76,4%	70,7 – 81,3
Valore negativo predittivo	97,6%	96,2 – 98,4
Correlazione	92,6%	91,8 – 93,4

I campioni discrepanti sono stati valutati utilizzando gli attuali test ELISA per la glutammato deidrogenasi di *C. difficile*.
Ventinove dei 62 campioni falsamente positivi sono risultati positivi con un altro test GDH e sono stati considerati veri positivi.
Tredici dei 21 campioni falsamente negativi erano negativi con un altro test GDH e sono stati considerati veri negativi.

La porzione di antigene del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è stata confrontata con il test di coltura tissutale per il rilevamento della tossina di C. difficile. I campioni inclusi nella valutazione sono stati inviati ai laboratori clinici per l'analisi di routine. I risultati sono presentati nella Tabella 2. La porzione di antigene del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* ha rilevato il 98,7% dei campioni positivi alla coltura tissutale.

Tabella 2. Riepilogo delle prestazioni cliniche con confronto tra il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* e il test di coltura tissutale

n = 1126	Coltura tissutale Positivo	Coltura tissutale Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea dell'antigene positiva	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea dell'antigene negativa	2	861

Valutazione clinica della porzione della tossina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

La porzione della tossina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è stata confrontata con il test di coltura tissutale presso due laboratori clinici e internamente presso TECHLAB, Inc. I campioni inclusi nella valutazione sono stati inviati ai laboratori clinici per l'analisi di routine. I risultati sono presentati nella Tabella 3.

Tabella 3. Riepilogo delle prestazioni cliniche con confronto tra il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* e il test di coltura tissutale

n = 1126	Coltura tissutale Positivo	Coltura tissutale Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea delle tossine positiva	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea delle tossine negativa	19	964

		Limiti di confidenza 95%
Sensibilità	87,8%	81,4 - 92,3
Specificità	99,4%	98,6 - 99,7
Valore positivo predittivo	95,8%	90,7 - 98,3
Valore negativo predittivo	98,1%	96,9 - 98,8
Correlazione	97,8%	97,6 - 98,0

I campioni discrepanti sono stati valutati utilizzando test ELISA per le tossine A e B.
Cinque dei 6 campioni falsamente positivi sono risultati positivi al test ELISA e sono stati considerati veri positivi.
Dodici dei 19 campioni falsamente negativi erano negativi al test ELISA e sono stati considerati veri negativi.

For Instructional Use Only

EFFETTO DELLA CONSISTENZA DEI CAMPIONI DI FECI

Effetto della consistenza dei campioni di feci sul test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

La reazione dei campioni di feci di diversa consistenza nella porzione dell'antigene (n=978) e nella porzione della tossina (n=981) del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è presentata nelle Tabelle 4 e 5. Le percentuali di reazioni positive utilizzando la coltura o il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* sono risultate simili in tutti e tre i tipi di campioni fecali (liquidi, semi-solidi e solidi). Tutti i campioni sono stati sottoposti ad analisi del C. difficile. Alla base dell'analisi vi era l'anamnesi clinica del paziente e non la consistenza del campione. Nella porzione dell'antigene, i risultati mostrano che il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* dava risultati analoghi alla coltura batterica quando veniva eseguita l'analisi di consistenze diverse. Nella porzione della tossina, i risultati mostrano che il test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* dava risultati analoghi alla coltura tissutale quando veniva eseguita l'analisi di consistenze diverse.

Tabella 4. Reazione dei campioni di feci di diversa consistenza nella porzione dell'antigene del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Numero di campioni (n = 978)	Campioni liquidi (n = 335)	Semi-solidi Campioni (n = 522)	Campioni solidi (n = 121)
Positivi alla coltura batterica	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea dell'antigene positiva	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Negativi alla coltura batterica	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea dell'antigene negativa	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tabella 5. Reazione dei campioni di feci di diversa consistenza nella porzione della tossina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Numero di campioni (n = 981)	Campioni liquidi (n = 336)	Semi-solidi Campioni (n = 523)	Campioni solidi (n = 122)
Positivi alla coltura tissutale	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea delle tossine positiva	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Negativi alla coltura tissutale	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linea delle tossine negativa	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

SENSIBILITA' ANALITICA

Il valore di cut-off del test è stato stabilito a concentrazioni di 0,63 ng/mL per la tossina A, 0,16 ng/mL per la tossina B e 0,8 ng/mL per la glutammato deidrogenasi.

RIPRODUCIBILITÀ

La riproducibilità del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è stata determinata utilizzando 12 campioni fecali codificati in modo da prevenirne l'identificazione durante il test. Il test è stato eseguito presso 3 laboratori indipendenti che hanno analizzato i campioni per 3 giorni. I campioni hanno prodotto i risultati attesi il 100% delle volte.

CROSS-REATTIVITA'

I campioni fecali inoculati con i seguenti microorganismi fino a una concentrazione finale di circa 10^8 o più organismi per mL non hanno reagito nella porzione dell'antigene o della tossina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Batterio o patogeno: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (non tossigeno)*, Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC*, Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7*, Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans)*, Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

L'unico organismo non-*C. difficile* a reagire nella porzione della tossina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* è stato il *Clostridium sordellii* VPI 9048. Questo ceppo produce tossine HT e LT, che sono rispettivamente omologhe alle tossine A e B.

I seguenti virus da $10^{3,3}$ a $10^{8,25}$ unità TCID per 0,2 mL non hanno reagito nel test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Virus: Tipi di adenovirus 1, 2, 3, 5, 40, 41, coronavirus umano, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, echovirus 9, 11, 18, 22, 33, tipo di enterovirus 68, 69, 70, 71, rotavirus.

SOSTANZE INTERFERENTI

Le seguenti sostanze (formulazione USA) non hanno avuto effetti sui risultati del test quanto presenti nelle feci alle concentrazioni indicate: mucina (3,5% p/v), sangue umano (40% v/v), solfato di bario (5% p/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), acido stearico/palmitico (40% p/v), metronidazolo (0,25% p/v), vancomicina (0,25% p/v).

REAZIONE DEGLI ISOLATI CLINICI OTTENUTI ALL'AGAR CICLOSERINA-CEFOXITINA-FRUTTOSIO (CCFA)

Un totale di 103 isolati clinici di *C. difficile*, ottenuti mediante coltura batterica anaerobica su CCFA dopo 3 giorni a 37°C sono stati sottoposti ad analisi con test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Ai fini dell'analisi, singole colonie sono state selezionate e sospese nel *diluente* come raccomandato per i campioni fecali. Tutti e 103 gli isolati hanno prodotto una reazione positiva all'antigene nel test. Settanta dei 103 isolati (68%) provenivano da campioni fecali positivi per la tossina di *C. difficile* mediante coltura tissutale. Di questi, 56 (80%) hanno prodotto una reazione positiva alla tossina quando sottoposti a screening dopo crescita anaerobica su CCFA per 3 giorni a 37°C.

For instructional use only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

BEOOGD GEBRUIK

De TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-test is een snel membraan-enzymimmuno-assay voor de gelijktijdige detectie van *Clostridium difficile*-glutamaatdehydrogenase-antigen en de toxinen A en B in een enkel reactieputje. De test detecteert *C. difficile*-antigen, glutamaatdehydrogenase, als een screening voor de aanwezigheid van *C. difficile* en bevestigt de aanwezigheid van toxigeen *C. difficile* door detectie van de toxinen A en B in fecale monsters van personen die vermoedelijk lijden aan een *C. difficile*-aandoening. De test moet worden worden gebruikt als hulp bij de diagnose van een *C. difficile*-aandoening. Net als bij andere *C. difficile*-testen, moeten de resultaten worden beschouwd in combinatie met de voorgeschiedenis van de patiënt.

UITLEG

Na behandeling met antibiotica ontwikkelen veel patiënten gastro-intestinale problemen die gaan van milde diarree tot ernstige pseudomembraneuze colitis. Veel gevallen van de mildere vormen van een maagdarmstelselaandoening en de meeste gevallen van pseudomembraneuze colitis worden veroorzaakt door toxigene stammen van *Clostridium difficile* (1). Dit organisme is een opportunistische anaerobe bacterie die in de darm groeit zodra de normale flora door het antibioticum is veranderd. Toxigene stammen van *C. difficile* dragen de genen die coderen voor de toxinen terwijl niet-toxigene stammen deze toxinegenen niet dragen. Het begin van de aandoening wordt geassocieerd met de toxinen die door het toxigene organisme zijn geproduceerd. De klinische klachten geassocieerd met de aandoening worden geacht primair te wijten te zijn aan toxine A, dat een weefselbeschadigend enterotoxine is (2,3). *C. difficile* produceert ook een tweede toxine, het zogenaamde toxine B. Toxine B, dat ook het cytotoxine van het organisme wordt genoemd, is het toxine dat gedetecteerd wordt door het weefselkweekassay dat momenteel door veel laboratoria wordt gebruikt. Toxigene *C. difficile*-stammen produceren beide toxinen, of alleen toxine B (4-7). De glutamaatdehydrogenase van *C. difficile* is een goede antigenmerker voor het organisme in feces omdat dit door alle stammen, toxigeen of niet-toxigeen in grote hoeveelheden geproduceerd wordt (8-10). Het antigen kan in fecale monsters worden gedetecteerd door gebruik te maken van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-test. Een positief resultaat van de test voor het glutamaatdehydrogenase van *C. difficile* bevestigt de aanwezigheid van dit organisme in een fecaal monster; een negatief resultaat duidt op de afwezigheid van het organisme. Een positief resultaat op de test voor de toxinen A en B bevestigt de aanwezigheid van het toxigene *C. difficile*.

PRINCIPE VAN DE TEST

De *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-test gebruikt antilichamen specifiek voor glutamaatdehydrogenase en de toxinen A en B van *C. difficile*. Het instrument bevat een reactievenster met drie verticale lijnen geïmmobiliseerde antilichamen. De antigentestlijn ("Ag") bevat antilichamen tegen *C. difficile*-glutamaatdehydrogenase. De controlelijn ("C") is een stippellijn die anti-mierikswortelperoxidase (HRP)-antilichamen bevat. De testlijn voor de toxinen A en B ("Tox") bevat antilichamen tegen de *C. difficile*-toxinen A en B. Het *conjugaat* bestaat uit antilichamen van glutamaatdehydrogenase en antilichamen van de toxinen A en B gekoppeld aan mierikswortelperoxidase. Om de test uit te voeren, wordt het monster toegevoegd aan een buis die een mengsel van *verdunner* en *conjugaat* bevat. Het verdunde monster-conjugaatmengsel wordt aangebracht in het *monsterputje* en het instrument wordt 15 minuten op kamertemperatuur geïncubeerd. Tijdens de incubatie binden eventuele glutamaatdehydrogenase en toxinen A en B in het monster aan de antilichaam-peroxidaseconjugaten. De antigen-antilichaam-conjugaatcomplexen migreren door een filterkussentje naar een membraan waar zij worden ingevangen door de geïmmobiliseerde glutamaatdehydrogenasespecifieke en toxine-A- en -B-specifieke antilichamen in de lijnen. Het *reactievenster* wordt vervolgens gewassen met *wasbuffer*, gevolgd door toevoeging van *substraat*. Na een 10 minuten durende incubatieperiode, wordt de "Ag"-reactie visueel onderzocht op de verschijning van een verticale blauwe lijn aan de "Ag"-zijde van het *reactievenster*. Een blauwe lijn geeft een positieve test aan. Als de "Ag" positief is, moet de "Tox"-reactie visueel worden onderzocht op de verschijning van een blauwe lijn aan de "Tox"-zijde van het *reactievenster*. Een blauwe lijn geeft een positieve test aan. Een positieve "C"-reactie, aangegeven door een verticale gestippelde blauwe lijn onder het "C"-gedeelte van het *reactievenster*, bevestigt dat de test goed werkt en de resultaten geldig zijn.

VERSTREKTE MATERIALEN

MEM | DEV — ***Membraaninstrumenten*** – elk zakje bevat 1 instrument

DIL | SPE — ***Verdunner* (22 mL per fles)** – Gebufferde eiwitoplossing met gegradueerde druppelaarconstructie (bevat 0,05% ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Wasbuffer* (12 mL per fles)** – Gebufferde oplossing met gegradueerde druppelaar constructie (bevat 0,05% ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Substraat* (3,5 mL per fles)** – Oplossing die tetramethylbenzidine bevat

CONJ | ENZ — ***Conjugaat* (2,5 mL per fles)** –Antilichaam specifiek voor glutamaatdehydrogenase gekoppeld aan mierikswortelperoxidase en antilichamen specifiek voor de toxinen A en B gekoppeld aan mierikswortelperoxidase in een gebufferde eiwitoplossing (bevat 0,05% ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Positieve controle* (2 mL)** – Antigen in een gebufferde eiwitoplossing

Plastic wegwerpoverbrengpipettes – gegradueerd op 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL en 500 µL

IVD — Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

*Signaalwoord: Waarschuwing
H317: Kan een allergische huidreactie veroorzaken
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATERIALEN EN VEREISTE, MAAR NIET MEEGELEVERDE UITRUSTING

Kleine testbuizen (bijv. plastic microcentrifugebuizen of glazen buizen)
Applicatorsticks *Timer* *Vortexmixer*
Wegwerphandschoenen voor hantering van fecale monsters *Pipetten en punten*

HOUDBAARHEIDSPERIODE EN OPSLAG

De vervaldatum van de set staat op het label. Vervaldatums voor elke component staan op de individuele labels. De set moet worden opgeslagen tussen 2 °C en 8 °C.

VOORZORGSMAATREGELEN

1. Voor *in vitro* diagnostisch gebruik. Enkel voor professioneel gebruik.
2. Reagentia uit verschillende sets mogen niet worden gemengd of onderling uitgewisseld. Gebruik geen set na de vervaldatum.
3. Elke component in de set moet worden geïnspecteerd op mogelijke tekenen van lekkage. Inspecteer de set bij aankomst, om te verzekeren dat de componenten niet zijn bevroren of warm zijn bij aanraking door onjuiste verzendomstandigheden.
4. Breng alle componenten op KAMERTEMPERATUUR VOOR HET GEBRUIK!
5. Doppen, punten en druppelaarconstructies zijn kleurgecodeerd; NIET mengen of onderling uitwisselen!
6. Bevries de reagentia niet. De set moet worden opgeslagen tussen 2 °C en 8 °C.
7. Het zakje dat het *membraaninstrument* bevat, moet op kamertemperatuur zijn voordat het wordt geopend. Houd de membraaninstrumenten droog voor het gebruik.

For Educational Use Only

NL

8. Gebruik fecale monsters binnen 72 uur na verzameling om optimale resultaten te verkrijgen. Monsters die zijn bevroren, kunnen door bevriezen en dooien hun activiteit verliezen. Als er bevroren monsters worden gebruikt, moeten deze op kamertemperatuur worden ontdooid.
9. Houd de reagensflessen verticaal om reagentia toe te dienen, om een consistente druppelgrootte en correct volume te verzekeren.
10. Monsters en membraaninstrumenten moeten na het gebruik worden gehanteerd en afgevoerd als potentiële biologische gevaren.
11. Membraaninstrumenten kunnen niet worden hergebruikt.
12. De test is geoptimaliseerd op gevoeligheid en specificiteit. Veranderingen van de gespecificeerde procedure en/of testcondities kunnen de gevoeligheid en specificiteit van de test beïnvloeden. Wijk niet af van de gespecificeerde procedure.
13. Let op de totale assayperiode wanneer u meer dan een fecaal monster test. Doe er eerst *verdunner* in en voeg dan het *conjugaat* toe aan elke buis *verdunner*. Vervolgens voegt u het monster toe aan de buis *verdunner/conjugaat*. Meng alle verdunde monsters grondig en breng ze over op het *membraaninstrument*. De incubatiestap van 15 minuten begint nadat het laatste verdunde monster-conjugaatmengsel werd overgebracht op het laatste *membraaninstrument*.
14. Als het *substraat*reagens verandert in een donkerblauwe/violette kleur, belt u de technische diensten om vervanging.
15. Fecale monsters kunnen potentieel infectieuze agentia bevatten en moeten worden gehanteerd op “bioveiligheidsniveau 2” zoals aanbevolen in de CDC/NIH-handleiding “Biologische veiligheid in microbiologische en biomedische laboratoria”.
16. Draag wegwerphandschoenen wanneer u de test doet.
17. De *Conjugaat*, *Verdunner* en *Wasbuffer* reagentia bevatten 0,05% ProClin® 300 als een conserveringsmiddel. De concentratie is weliswaar laag, maar ProClin® 300 staat bekend als schadelijk (huidsensibilisatie kan optreden). Als er huidsensibilisatie, -irritatie of -uitslag optreedt, vraag dan medisch advies/medische hulp. Doe vervuilde kleding uit en was deze, voordat u ze opnieuw gebruikt. Hanteer de reagentia in overeenstemming met de bestaande regelgeving voor laboratoriumveiligheid en goede laboratoriumpraktijken. Op aanvraag zijn veiligheidsinformatiebladen voor dit product verkrijgbaar, neem contact op met de technische ondersteuning.
18. Volg daarom uw nationale, regionale en lokale verordeningen voor afvalverwijderingsregelgeving.

VERZAMELING, HANTERING EN OPSLAG VAN FECALE MONSTERS

Aanvaardbare monstertypen
Verse fecale monsters
Bevroren fecale monsters
Monsters in transportmedia (Cary Blair, C&S)

Niet gebruiken
Fecale monsters in op formaline gebaseerde fixatief (bijv. natriumacetaatformaline, 10% formaline, merthiolaatformaline)
Fecale monsters in op alcohol gebaseerde fixatief (bijv. polyvinylalcohol)

Opslag monsters Temperatuur	Aanvaardbare opslagduur	Opmerkingen
2 °C – 8 °C	72 uur	Ideale monsters zijn minder dan 24 uur oud
Bevroren ≤ -10 °C	Langer dan 72 uur	Ontdooien op kamertemperatuur. Verscheidene keren bevriezen en ontdooien kan leiden tot verlies van monsteractiviteit door toxine-afbraak.

1. De ter plaatse gebruikte standaard verzamelings- en hanteringsprocedures voor fecale monsters zijn toepasselijk.
2. Fecale monsters moeten worden verzameld in schone, lekvrije containers.
3. Opslag van fecale monsters in de *verdunner* wordt NIET aanbevolen.
4. Laat de fecale monsters niet >24 uur in het *verdunner/conjugaat*-mengsel zitten.

BEREIDING MONSTER

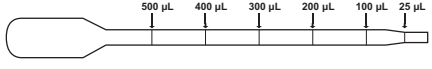
1. Breng alle reagentia en het vereiste aantal apparaten voor het gebruik op kamertemperatuur. Aanbevolen wordt de reagentia uit het schuimverpakkingsstuk te verwijderen om de tijd die nodig is om ze tot kamertemperatuur op te warmen te verkorten.
2. Stel voor elk monster een kleine testbuis op en label deze, en doe hetzelfde voor optionele externe controles, voor zover noodzakelijk.
3. Gebruik de zwart gegradueerde druppelaarconstructie, voeg 750 µL (2e graduatie vanaf de punt) *verdunner* toe aan elke buis voor fecale monsters. **Voor monsters in transportmedia zoals Cary Blair of C&S, voegt u 650 µL (1e maatstreep vanaf de punt) *verdunner* toe aan de buis.**

Monstertype	Volume *verdunner*
Verse fecale monsters	750 µL (2e graduatie vanaf de punt)
Bevroren fecale monsters (bevroren onverdund)	750 µL (2e graduatie vanaf de punt)
Monsters in transportmedia (Cary Blair, C&S)	650 µL (1e maatstreep vanaf de punt)
Externe controles (positief en negatief)	750 µL (2e graduatie vanaf de punt)



4. Voeg een druppel *conjugaat* (fles met de rode dop) toe aan elke buis.
5. Zorg voor een plastic wegwerpoverbrengpipet (meegeleverd met de set) voor elk monster – de pipetten hebben oplopende graduaties van 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL en 500 µL.

Gegradueerde overbrengpipet:



6. **Meng alle monsters grondig ongeacht de consistentie – het is van essentieel belang dat de monsters gelijkmatig zijn gesuspendeerd voordat ze worden overgebracht.**
Vloeibare/halfvaste monsters – Pipetteer 25 µL van monster met een overbrengpipet en dispenseer in het *verdunner/conjugaat*-mengsel. Gebruik dezelfde overbrengpipet om het verdunde monster te mengen.
Gevormde/vaste monsters – Zorg ervoor dat de correcte hoeveelheid gevormde feces aan het monstermengsel wordt toegevoegd. Meng het monster grondig met behulp van een houten applicatorstick en breng een klein gedeelte (ongeveer 2 mm diameter, het equivalent van 25 µL) van het monster over in het verdunner/conjugaat-mengsel. Emulsifeer het monster met behulp van de applicatorstick.

For Instructional Use Only

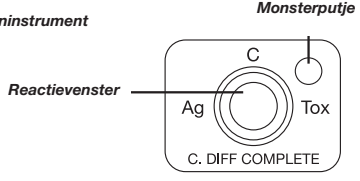
Fecale monsters in Cary Blair- of C&S-transportmedia - Pipetteer 100 µL (2e graduatie vanaf de punt van de overbrengpipet) van het monster in het *verdunner/conjugaat*-mengsel.

7. **Optionele externe controlemonsters:**
   Externe positieve controle - Voeg een druppel *positieve controle* (fles met grijze dop) in het *verdunner/conjugaat*-mengsel.
   Externe negatieve controle - Voeg 25 µL *verdunner* in het *verdunner/conjugaat*-mengsel.

OPMERKING: Overbrenging van te weinig monster, of als het niet volkomen gemixt is en het monster niet compleet gesuspendeerd is in het verdunner/conjugaat-mengsel, kan leiden tot een fout-negatief testresultaat. De toevoeging van te veel fecaal monster kan leiden tot ongeldige resultaten vanwege een beperkte monsterstroom.

TESTPROCEDURE

1. Zorg voor één *membraaninstrument* per monster en één instrument per optionele externe positieve of negatieve controle, voor zover noodzakelijk. De foliezakken die de instrumenten bevatten moeten op kamertemperatuur worden gebracht, voordat ze worden geopend. Gebruik het instrument onmiddellijk na openen. Etiketteer elk instrument op de juiste wijze en zet dit op een vlak oppervlak zodat de opdruk “C. DIFF COMPLETE” aan de onderkant van het instrument zit en het monsterputje zich in de rechterbovenhoek van het instrument bevindt.



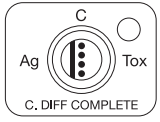
2. Sluit elke buis verdund monster en meng grondig. De juiste menging kan worden bereikt door de inhoud te laten wervelen of de buis om te keren. Als een patiëntmonster of *positieve controle* is verdund in het *verdunner/conjugaat*-mengsel, kan het gedurende een periode van maximaal 24 uur op kamertemperatuur worden geïncubeerd voordat het op het *membraaninstrument* wordt aangebracht.
3. Gebruik een nieuwe overbrengpipet, breng 500 µL van het verdunde monsterconjugaatmengsel in het ***monsterputje*** (kleinere opening in de rechterbovenhoek van het instrument) van een *membraaninstrument*, zorg ervoor dat u het vloeistofmonster eruit perst op het gaasje in het *membraaninstrument*. Wanneer u het monster in het monsterputje aanbrengt, dient u zich ervan te vergewissen dat de punt van de overbrengpipet naar het *reactievenster* is gebogen (grotere opening in het midden van het instrument).
4. Incubeer het instrument gedurende 15 minuten op kamertemperatuur – het monster zal door het instrument kruipen waarbij zich een nat gedeelte over het *reactievenster* verspreidt.
   OPMERKING OVER MONSTERS DIE NIET MIGREREN:
   Zo nu en dan zal een verdund monster niet goed migreren en wordt het reactievenster niet volledig nat. Als het reactievenster niet binnen 5 minuten nadat het monster op het monsterputje is aangebracht volkomen nat lijkt, voeg dan 100 µL (4 druppels) verdunner toe op het monsterputje en wacht nog eens 5 minuten (in totaal 20 minuten).
5. Na de incubatie, voegt u 300 µL *wasbuffer* toe aan het ***reactievenster***, gebruik daarbij de gegradueerde witte druppelaarconstructie. Laat de *wasbuffer* door het reactievenstermembraan lopen en volkomen absorberen.
6. Voeg 2 druppels *substraat* toe (fles met witte dop) aan het ***reactievenster***. Lees de resultaten visueel af na 10 minuten en registreer ze.

INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

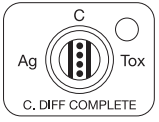
1. De interpretatie van de test is het betrouwbaarst wanneer het instrument onmiddellijk aan het eind van de 10 minuten durende reactieperiode wordt afgelezen. Lees het instrument op een normale werkafstand af in een goed verlichte ruimte. Kijk met de gezichtslijn direct over het instrument.
2. Observeer het instrument op de verschijning van blauwe stippen in het midden van het *reactievenster* die de interne positieve controle voorstellen. De verschijning van eventuele controlestip(pen) stelt een geldige interne controle voor. De achtergrond kan wit tot lichtblauw gekleurd lijken. Observeer het instrument op de verschijning van blauwe lijnen aan de “Ag”- en “Tox”- zijden van het *reactievenster* die testlijnen voorstellen. De lijnen kunnen een zwakke tot donkere intensiteit hebben.
3. **Positief antigen (“Ag”)-resultaat:** Een positief antigenresultaat kan op elk tijdstip tussen de toevoeging van *substraat* en de leestijd van 10 minuten worden geïnterpreteerd. Voor een positief antigenresultaat zijn de blauwe “Ag”-lijn en de gestippelde blauwe controlelijn onder “C” zichtbaar (afbeelding 1a). De lijnen kunnen een zwakke tot donkere intensiteit hebben. Een duidelijke gedeeltelijke lijn wordt geïnterpreteerd als een positief resultaat. Interpreteer de membraanverkleuring niet als een positief resultaat. Een positief resultaat duidt op de aanwezigheid van *C. difficile*.
4. **Positief antigen- en toxine (“Tox”)-resultaat:** Als het antigenresultaat positief is (d.w.z. er zijn een blauwe “Ag”-lijn en een gestippelde blauwe controle onder “C” zichtbaar), gaat u verder met de interpretatie van het toxineresultaat. Een positief toxineresultaat kan op elk tijdstip tussen de toevoeging van *substraat* en de leestijd van 10 minuten worden geïnterpreteerd. Voor een positief toxineresultaat is er blauwe “Tox”-lijn zichtbaar (afbeelding 1b). De lijn kan een zwakke tot donkere intensiteit hebben. Een duidelijke gedeeltelijke lijn wordt geïnterpreteerd als een positief resultaat. Interpreteer de membraanverkleuring niet als een positief resultaat. Een positief resultaat duidt op de aanwezigheid van het *C. difficile*-toxine.
5. **Negatief resultaat:** Een test kan voor afloop van de 10 minuten volgend op de toevoeging van het *substraat* niet worden geïnterpreteerd als negatief of ongeldig. Er is een enkele blauwe stippellijn zichtbaar in het midden van het *reactievenster* onder de “C” en er zijn geen testlijnen zichtbaar aan de “Ag”-kant of de “Tox”-kant van het *reactievenster* (afbeelding 1c). Een negatief resultaat in het antigengedeelte geeft aan dat het *C. difficile*-antigen ofwel afwezig is in het monster of onder de detectiegrens van de test ligt. Een negatief resultaat in het toxinegedeelte geeft aan dat het C. difficile-toxine ofwel afwezig is in het monster of onder de detectiegrens van de test ligt.
6. **Ongeldig resultaat:** Er zijn geen lijnen zichtbaar in het reactievenster (afbeelding 1d). Het testresultaat is ongeldig als er bij afronding van de reactieperiode geen blauwe stippellijn aanwezig is onder de “C” (afbeeldingen 1e, 1f, 1g).
7. **Negatief antigen (“Ag”), positief toxine (“Tox”):** Een laag percentage van de monsters kan negatief testen voor antigen maar positief voor toxine. Deze monsters moeten als onduidelijk worden beschouwd en opnieuw worden getest met behulp van een vers monster (afbeelding 1h). Als het monster bij de volgende test negatief is voor antigen maar positief voor toxine, meldt u een positief toxineresultaat.

For International Use Only

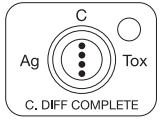
AFBEELDING 1: *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN



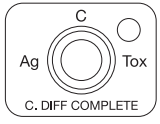
Afbeelding 1a
Positief antigenresultaat



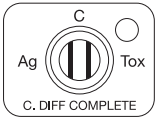
Afbeelding 1b
Positief antigen
- en toxineresultaat



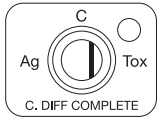
Afbeelding 1c
Negatief resultaat



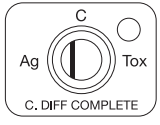
Afbeelding 1d
Ongeldig resultaat



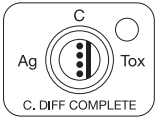
Afbeelding 1e
Ongeldig resultaat



Afbeelding 1f
Ongeldig resultaat



Afbeelding 1g
Ongeldig resultaat



Afbeelding 1h
Zie nr. 7 voor de interpretatie

KWALITEITSCONTROLE

Intern: Er moet een gestippelde blauwe lijn zichtbaar zijn in het midden van het *reactievenster*, onder de "C" op elk *membraaninstrument* dat is getest. De verschijning van de blauwe controlestippen bevestigt dat het monster en de reagentia correct werden toegevoegd, dat de reagentia actief waren op het tijdstip waarop het assay werd uitgevoerd en dat het monster goed door het *membraaninstrument* migreerde. Deze bevestigt ook de reactiviteit van de andere reagentia in verband met het assay. Een uniforme achtergrond in het resultaatgedeelte wordt beschouwd als een interne negatieve controle. Als de test correct werd uitgevoerd en de reagentia goed werken, zal de achtergrond wit zijn om een waarneembaar resultaat te geven.

Extern: De reactiviteit van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-set moet na ontvangst met behulp van de *positieve controle* en negatieve controle (*verdunner*) worden geverifieerd. De *positieve controle* wordt met de set meegeleverd (fles met grijze dop). De *positieve controle* bevestigt de reactiviteit van de andere reagentia in verband met het assay, en is niet bedoeld om de precisie op de scheidslijn van het analytische assay te verzekeren. De *verdunner* wordt gebruikt voor de negatieve controle. Er kunnen extra testen worden uitgevoerd met de controles om tegemoet te komen aan de eisen van plaatselijke, nationale en/of federale regelgevingen en/of accrediterende organisaties.

BEPERKINGEN

1. De *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test wordt gebruikt om C. difficile-antigen en toxine(n) te detecteren in fecale monsters. De test bevestigt de aanwezigheid van toxine in feces en deze informatie moet door de arts in overweging worden genomen in het licht van de klinische geschiedenis en het lichamelijke onderzoek van de patiënt. De *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test detecteert toxine A-niveaus ≥0,63 ng/mL, toxine B-niveaus ≥0,16 ng/mL en glutamaatdehydrogenase-niveaus ≥0,8 ng/mL.
2. Fecale monsters zijn buitengewoon complex. Optimale resultaten met de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test worden verkregen met monsters die minder dan 24 uur oud zijn. De meeste onverdunde monsters kunnen 72 uur worden bewaard tussen 2 °C en 8 °C voordat er een significante afbraak van het toxine wordt bemerkt. Als monsters niet binnen deze periode worden geanalyseerd, kunnen zij bevroren en ontdooid worden. Herhaaldelijk bevriezen en ontdooien kan echter leiden tot verlies in de immunoreactiviteit van het antigen en toxine A en B.
3. Sommige monsters kunnen zwakke reacties geven. Dit kan te wijten zijn aan een aantal factoren zoals de aanwezigheid van lage niveaus antigen en/of toxine, de aanwezigheid van bindende stoffen, of inactiverende enzymen in de feces. De lijnen kunnen een zwakke tot donkere intensiteit hebben. Deze monsters kunnen worden gerapporteerd als positief als er een blauwe lijn, zelfs een gedeeltelijke lijn, wordt waargenomen. Een duidelijke gedeeltelijke blauwe lijn wordt als een positief resultaat geïnterpreteerd.
4. Fecale monsters bewaard in 10% formaline, merthiolaatformaline, natriumacetaatformaline, of polyvinylalcohol kunnen niet worden gebruikt.
5. De *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test is kwalitatief. De intensiteit van de kleur mag niet kwantitatief worden geïnterpreteerd.
6. Sommige isolaten van *C. sordellii* kunnen in de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test reageren door de productie van immunologisch verwante toxinen (1).
7. Kolonisatiepercentages tot 50% zijn gemeld voor zuigelingen. Een hoog percentage werd ook gemeld bij cystische-fibrosepatiënten (1,3). De resultaten kunnen in deze groepen positief lijken, maar moeten worden gezien in combinatie met de mogelijkheid een gekolonialiseerde drager te zijn.
8. Het enige niet-*C. difficile*-organisme dat reageert op het toxinegedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test was *Clostridium sordellii* VPI 9048. Deze stam produceert de toxinen HT en LT, die homoloog zijn aan de toxinen A, respectievelijk B.
9. Er bestaan geen gegevens over de effecten van wassingen van de dikke darm, bariumklysma's, laxeermiddelen of darmpreparaten op de prestatie van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test. Al deze procedures kunnen leiden tot uitgebreide verdunning of aanwezigheid van additieven die de testprestatie kunnen beïnvloeden.

VERWACHTE WAARDEN

Een *Clostridium difficile*-aandoening is primair een nosocomiale aandoening van oudere patiënten en de frequentie van de aandoening is afhankelijk van factoren zoals patiëntenpopulatie, type instelling en epidemiologie. De gerapporteerde incidentie van de *C. difficile*-aandoening bij patiënten met antibioticumgerelateerde diarree kunnen lopen van 5 tot 20%, en ziekenhuizen kunnen percentages ervaren die lager of hoger zijn dan dit bereik. Het is belangrijk eventuele testresultaten te beschouwen in combinatie met klinische verschijnselen, omdat sommige gezonde volwassenen en grote aantallen gezonde zuigelingen (tot 50%) positief zijn voor het *C. difficile*-toxine. Bovendien zijn voor *C. difficile* dragerpercentages van 22% tot 32% gerapporteerd bij cystische-fibrosepatiënten (1,3). In de onderzoeken die voor dit instrument zijn uitgevoerd met symptomatische patiënten, was de incidentie van de toxinen A en B 12% en GDH 18%. Een positief resultaat in het antigengedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test bevestigt de aanwezigheid van *C. difficile* in een fecaal monster; een negatief resultaat duidt op de afwezigheid van het organisme. Een positief resultaat in het toxinegedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® bevestigt de aanwezigheid van het *C. difficile*-toxine in een fecaal monster; een negatief resultaat duidt op de afwezigheid van toxine of te lage toxineniveaus voor detectie.

Not Instructional Content

PRESTATIEKARAKTERISTIEKEN

Klinische evaluatie van het antigengedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test

Het antigengedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test werd vergeleken met bacteriekweek. Monsters die zijn opgenomen in de evaluatie werden voor routinematig testen voorgelegd aan klinische laboratoria. De bacteriekweektest werd uitgevoerd overeenkomstig de eigen laboratoriumprocedures. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 1.

Tabel 1. Samenvatting van de klinische prestatie van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test vergeleken met bacteriekweek

n = 1126	Bacteriekweek Positief	Bacteriekweek Negatief
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlijn positief	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlijn negatief	21	842

		95% betrouwbaarheidsinterval
Gevoeligheid	90,5%	85,7 – 93,9
Specificiteit	93,1%	91,2 – 94,7
Voorspellende positieve waarde	76,4%	70,7 – 81,3
Voorspellende negatieve waarde	97,6%	96,2 – 98,4
Correlatie	92,6%	91,8 – 93,4

Tegenstrijdige monsters werden geëvalueerd met behulp van actuele ELISA-testen voor *C. difficile*-glutamaatdehydrogenase.
Negenentwintig van de 62 fout-positieve monsters waren positief bij een andere GDH-test en werden als echt-positief beschouwd.
Dertien van de 21 fout-negatieve monsters waren negatief bij een andere GDH-test en werden als echt-negatief beschouwd.

Het antigengedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test werd vergeleken met het weefselkweek-assay voor de detectie van C. difficile-toxine. Monsters die zijn opgenomen in de evaluatie werden voor routinematig testen voorgelegd aan klinische laboratoria. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 2. Het antigengedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test detecteerde 98,7% van de weefselkweek-positieve monsters.

Tabel 2. Samenvatting van klinische prestatie, vergelijking van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test met het weefselkweek-assay

n = 1126	Weefselkweek Positief	Weefselkweek Negatief
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlijn positief	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlijn negatief	2	861

Klinische evaluatie van het toxinegedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test

Het toxinegedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test werd vergeleken met het weefselkweek-assay in twee klinische laboratoria en binnen het bedrijf TECHLAB, Inc. Monsters die zijn opgenomen in de evaluatie werden voor routinematig testen voorgelegd aan de klinische laboratoria. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 3.

Tabel 3. Samenvatting van de klinische prestatie, vergelijking van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test met weefselkweek-assay

n = 1126	Weefselkweek Positief	Weefselkweek Negatief
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxinelijn positief	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxinelijn negatief	19	964

		95% betrouwbaarheidsinterval
Gevoeligheid	87,8%	81,4 - 92,3
Specificiteit	99,4%	98,6 - 99,7
Voorspellende positieve waarde	95,8%	90,7 - 98,3
Voorspellende negatieve waarde	98,1%	96,9 - 98,8
Correlatie	97,8%	97,6 - 98,0

Tegenstrijdige monsters werden geëvalueerd met behulp van actuele ELISA-testen voor toxine A en B.
Vijf van de 6 fout-positieve monsters waren positief bij ELISA en werden als echt positief beschouwd.
Twaalf van de 19 fout-negatieve monsters waren negatief bij ELISA en werden als echt-negatief beschouwd.

For Instructional Use Only

EFFECT VAN FECALE MONSTERCONSISTENTIE

Effect van de fecale monsterconsistentie op de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test

De reactie van fecale monsters van variërende consistentie in het antigengedeelte (n=978) en toxinegedeelte (n=981) van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test wordt weergegeven in de tabellen 4 en 5. De percentages positieve reacties met behulp van ofwel een kweek-assay of de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test waren gelijksoortig bij alle drie typen fecale monsters (vloeibaar, halfvast en vast). Alle monsters werden voorgelegd voor C. difficile-testen. De basis van de voorlegging was de klinische geschiedenis van de patiënt en niet de consistentie van het monster. In het antigengedeelte laten de resultaten zien dat de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test gelijksoortig presteerde als de bacteriekweek toen er monsters van verschillende consistentie werden getest. In het toxinegedeelte laten de resultaten zien dat de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test gelijksoortig presteerde als het weefselkweek-assay toen er monsters van verschillende consistentie werden getest.

Tabel 4. Reactie van fecale monsters van variërende consistentie in het antigengedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test

Aantal monsters (n = 978)	Vloeibare monsters (n = 335)	Halfvaste monsters (n = 522)	Vaste monsters (n = 121)
Positief bij bacteriekweek-assay	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlijn positief	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Negatief bij bacteriekweek-assay	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlijn negatief	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tabel 5. Reactie van fecale monsters van variërende consistentie in het toxinegedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test

Aantal monsters (n = 981)	Vloeibare monsters (n = 336)	Halfvaste monsters (n = 523)	Vaste monsters (n = 122)
Positief bij weefselkweek-assay	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxinelijn positief	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Negatief bij weefselkweek-assay	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toxinelijn negatief	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

ANALYTISCHE GEVOELIGHEID

De scheidslijn voor het assay werd vastgesteld op concentraties van 0,63 ng/mL voor toxine A, 0, 16 ng/mL voor toxine B en 0,8 ng/mL voor glutamaatdehydrogenase.

REPRODUCEERBAARHEID

De reproduceerbaarheid van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test werd bepaald met behulp van 12 fecale monsters die werden gecodeerd om hun identificatie tijdens het testen te voorkomen. De testen werden uitgevoerd in 3 onafhankelijk laboratoria, die de monsters 3 dagen testten. De monsters produceerden 100% van de tijd de verwachte resultaten.

KRUISREACTIVITEIT

Fecale monsters geïnoculeerd met de volgende micro-organismen tot een uiteindelijke concentratie van ongeveer 10^8 of meer organismen per mL reageerden niet in het antigen- of toxinegedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test:

Bacterie of ziektekiem: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (niet-toxigeen)*, Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans)*, Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Het enige niet-*C. difficile*-organisme dat in het toxinegedeelte van de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test reageerde, was *Clostridium sordellii* VPI 9048. Deze stam produceert de toxinen HT en LT, die homoloog zijn aan toxine A, respectievelijk B.

De volgende virussen van $10^{3,3}$ tot $10^{8,25}$ TCID- eenheden per 0,2 mL reageerden niet in de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test:

Virussen: Adenovirus types 1, 2, 3, 5, 40, 41, Human coronavirus, Coxsackievirus B2, B3, B4, B5, Echovirus 9, 11, 18, 22, 33, Enterovirus type 68, 69, 70, 71, Rotavirus.

INTERFERERENDE STOFFEN

De volgende stoffen (VS-formulering) hadden geen effect op de testresultaten wanneer ze in de aangegeven concentraties in feces aanwezig waren: mucine (3,5% g/v), menselijk bloed (40% v/v), bariumsulfaat (5% g/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectaat® (5% v/v), Peptobismol® (5% v/v), stearine-/palmitinezuur (40% g/v), metronidazol (0,25% g/v), vancomycine (0,25% g/v).

REACTIE VAN KLINISCHE ISOLATEN VERKREGEN OP CYCLOSERINE-CEFOXITIN-FRUCTOSE AGAR (CCFA)

In totaal 103 klinische isolaten van *C. difficile*, verkregen uit anaerobe bacteriekweek op CCFA na 3 dagen bij 37 °C, werden getest in de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-test. Voor de analyse werden individuele kolonies opgepikt en gesuspendeerd in *verdunner*, zoals aanbevolen voor fecale monsters. Alle 103 isolaten gaven in de test een positieve antigenreactie.

Zeventig van de 103 isolaten (68%) kwamen uit fecale monsters die positief waren voor *C. difficile*-toxine bij weefselkweek-assay. Daarvan gaven er 56 (80%) een positieve toxinereactie bij screening na anaerobe groei op CCFA gedurende 3 dagen bij 37 °C.

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

BRUKSOMRÅDE

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* test er en hurtig membranenzymimmunanalyse for samtidig påvisning av *Clostridium difficile* glutamatdehydrogenase-antigen og toksin A og B i en enkelt reaksjonsbrønn. Testen påviser *C. difficile*-antigen, glutamatdehydrogenase, som en screening for tilstedeværelsen av *C. difficile* og bekrefter tilstedeværelsen av toksigent *C. difficile* gjennom å påise toksin A og B i avføringsprøver fra personer som mistenkes å ha *C. difficile*-sykdom. Testen indiseres for bruk som et hjelpemiddel til diagnostiseringen av *C. difficile*-sykdom. Som med andre *C. difficile*-tester, skal resultatene vurderes i sammenheng med pasientens historikk.

FORKLARING

Etter behandling med antibiotika utvikler mange pasienter gastrointestinale problemer som strekker seg fra mild diaré til alvorlig pseudomembranøs kolitt. Mange tilfeller av de mildere formene for gastrointestinal sykdom og de fleste tilfeller av pseudomembranøs kolitt forårsakes av toksigene stammer av *Clostridium difficile* (1). Denne organismen er en opportunistisk anerob bakterie som vokser i tarmen når den normale floraen har blitt endret av antibiotika. Toksigene stammer av *C. difficile* bærer genene som koder toksinene, mens de ikke-toksigene stammene ikke bærer toksingenene. Sykdomsbegynnelsen er assosiert med toksinene som produseres av den toksigene organismen. De kliniske symptomene som er tilknyttet sykdommen menes å være primære på grunn av toksin A, som er et vevskadende enterotoksin (2,3). *C. difficile* produserer også et andre toksin, beskrevet som toksin B. Toksin B, som har blitt henvist til som cytotoksin i organismen, er det toksinet som påvises av vevkulturanalysen som aktuelt brukes av mange laboratorier. Toksigene *C. difficile*-stammer produserer begge toksiner, eller kun toksin B (4-7). Glutamatdehydrogenasen til *C. difficile* er en bra antigenmarkør for organismen i avføring, da den produseres i store mengder av alle stammer, toksigene eller ikke-toksigene (8-10). Antigenet kan påvises i avføringsprøver ved bruk av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen. Et positivt resultat i testen for glutamatdehydrogenase for *C. difficile* bekrefter tilstedeværelsen av denne organismen i avføringsprøver; et negativt resultat indikerer fraværet av organismen. Et positivt resultat i testen for toksin A og B bekrefter tilstedeværelsen av toksigen *C. difficile*.

PRINSIPPET FOR TESTEN

C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®-testen bruker antistoffer som er spesifikke for glutamatdehydrogenase og toksin A og B for *C. difficile*. Enheten inneholder et reaksjonsvindu med tre vertikale linjer med immobiliserte antistoffer. Antigentestlinjen (”Ag”) inneholder antistoffer mot *C. difficile* glutamatdehydrogenase. Kontrollinjen (”C”) er en prikket linje som inneholder anti-pepperrotperoksidase-antistoffer (HRP). Toksin A- og B-testlinjen (”Tox”) inneholder antistoffer mot *C. difficile*-toksin A og B. *Konjugatet* består av antistoffer for glutamatdehydrogenase og antistoffer for toksin A og B koblet til pepperrotperoksidase. For å utføre testen legges prøven til et rør som inneholder en blanding av *diluent* og *konjugat*. Den fortynnede prøve-konjugat-blandingen tilsettes *prøvebrønnen*, og enheten inkuberes ved romtemperatur i 15 minutter. I løpet av inkuberingen bindes eventuell glutamatdehydrogenase og toksin A og B i prøven til antistoff-peroksidasekonjugatene. Antigen-antistoff-konjugat-kompleksene migrerer gjennom en filterpute til en membran der de tas opp av immobiliserte glutamatdehydrogenasespesifikke og toksin A- og B-spesifikke antistoffer i linjene. *Reaksjonsvinduet* vaskes deretter med *vaskebuffer*, etterfulgt av tilsetningen av *substrat*. Etter en 10 minutters inkuberingsperiode undersøkes ”Ag”-reaksjonen visuelt for forekomst av en vertikal blå linje på ”Ag”-siden av *reaksjonsvinduet*. En blå linje indikerer en positiv test. Hvis "Ag" er positiv, skal "Tox"-reaksjonen undersøkes visuelt for forekomsten av en blå linje på "Tox"-siden av *reaksjonsvinduet*. En blå linje indikerer en positiv test. En positiv ”C”-reaksjon som indikeres av en vertikal stiplet blå linje under ”C”-delen av *reaksjonsvinduet*, bekrefter at testen fungerer riktig og at resultatene er gyldige.

MEDFØLGENDE MATERIALER

MEM | DEV — ***Membranenheter*** – hver lomme inneholder 1 enhet

DIL | SPE — ***Diluent* (22 ml pr. flaske)** – Bufret proteinløsning med gradert dråpetellerenhet (Inneholder 0,05 % ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Vaskebuffer* (12 ml pr. flaske)** – Bufret løsning med gradert dråpetellerenhet (Inneholder 0,05 % ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Substrat* (3,5 ml pr. flaske)** – Løsning som inneholder tetrametylbenzidin

CONJ | ENZ — ***Konjugat* (2,5 ml pr. flaske)** – Antistoff som er spesifikt for glutamatdehydrogenase som er bundet til pepperrotperoksidase og antistoffer som er spesifikke for toksin A og B som er bundet til pepperrotperoksidase i en bufret proteinløsning (inneholder 0,05 % ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Positiv kontroll* (2 ml)** – Antigen i en bufret proteinløsning

Engangsoverføringspipetter i plast – gradert ved 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL og 500 µL

IVD — Til *in vitro*-diagnostisk bruk

*Signalord: Advarsel
H317: Kan fremkalle en allergisk reaksjon.
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

NØDVENDIGE MATERIALER OG UTSTYR SOM IKKE MEDFØLGER

Små testrør (f.eks. mikrosentrifugerør i plast eller glassrør)”
Applikatorpinner *Timer* *Vorteksblander*
Engangshansker for håndtering av avføringsprøver *Pipette og sisser*

LEVETID OG OPPBEVARING

Kitets utløpsdato er angitt på etiketten. Utløpsdatoer for hver komponent er angitt på de enkelte etikettene. Kitet skal oppbevares mellom 2 °C og 8 °C.

FORSIKTIGHETSREGLER

1. Til *in vitro*-diagnostisk bruk. Kun til profesjonell bruk.
2. Reagenser fra ulike kit skal ikke blandes eller veksles med hverandre. Kitet må ikke brukes etter utløpsdatoen.
3. Hver komponent i kitet skal inspiseres for tegn på lekkasje. Ved ankomst, inspiser kitet for å garantere at komponentene ikke er frosne eller varme å berøre på grunn av feil forsendelsesbetingelser.
4. Bring alle komponentene til ROMTEMPERATUR FØR BRUK!
5. Hetter, spisser og dråpetellerenheter er fargekodet; de må IKKE blandes eller veksles med hverandre!
6. Reagensene skal ikke fryses. Kitet skal oppbevares mellom 2 °C og 8 °C.
7. Posen som inneholder *membranenheten* skal være ved romtemperatur før åpning. Hold membranenhetene tørre før bruk.

For Instructional Use Only

NO

8. Bruk avføringsprøver innen 72 timer etter taking for å oppnå optimale resultater. Prøver som er frosne kan miste aktivitet på grunn av frysing og opptining. Ved bruk av frosne prøver, tin opp ved romtemperatur.
9. Hold reagensflaskene vertikalt for å dispensere reagensene for å sikre konsekvent dråpestørrelse og riktig volum.
10. Prøver og membranenheter skal håndteres og bortskaffes som potensielt biologisk farlige elementer etter bruk.
11. Membranenheten kan ikke brukes på nytt.
12. Testen har blitt optimalisert for sensitivitet og spesifisitet. Endringer av den spesifiserte prosedyren og/eller testbetingelsene kan påvirke sensitiviteten og spesifisiteten til testen. Ikke avvik fra den spesifiserte prosedyren.
13. Vær oppmerksom på den totale analysetiden ved testing av mer enn én avføringsprøve. Tilsett først *diluent*, og tilsett deretter *konjugat* til hvert rør med *diluent*. Tilsett deretter prøve til røret med *diluent/konjugat*. Bland grundig alle de fortynnede prøvene og overfør til *membranenheten*. Det 15-minutters inkubasjonstrinnet begynne etter at den siste fortynnede prøve-konjugatblandingen har blitt overført til den endelige *membranenheten*.
14. Hvis *substratreagensen* endres til en mørk blå/fiolett farge, ring tekniske tjenester for utskiftning.
15. Avføringsprøver kan inneholde potensielt smittefarlige stoffer og skal håndteres ved "biologisk sikkehetsnivå 2" som anbefalt i CDC/NIH-håndboken "Biologisk sikkerhet i mikrobiologiske og biomedisinske laboratorier".
16. Bruk engangshansker ved utføring av testen.
17. *Konjugat*-, *fortynningsmiddel*- og *vaskebuffer*-reagentene inneholder 0,05 % ProClin® 300 som konserveringsmiddel. Selv om konsentrasjonen er lav, er det kjent at ProClin® 300 er skadelig (hudsensitisering kan forekomme). Hvis det oppstår sensitisering/irritasjon eller utslett, oppsøk lege. Ta av kontaminerte klær, og vask dem før du bruker dem igjen. Håndter reagensene i henhold til eksisterende bestemmelser for laboratoriesikkerhet og god laboratoriepraksis. Sikkerhetsdataark for dette produktet fås på forespørsel. Kontakt avdelingen for teknisk støtte.
18. Følg nasjonale, regionale og lokale bestemmelser for avfallshåndtering.

TAKING, HÅNDTERING OG OPPBEVARING AV AVFØRINGSPRØVER

Akseptable prøvetyper
Ferske avføringsprøver
Frosne avføringsprøver
Prøver i transportmedier (Cary Blair, C&S)

Må ikke brukes
Avføringsprøver i formalinbasert fiksativ (f.eks. natriumacetatformalin, 10 % formalin, mertiolat-formalin)
Avføringsprøver i alkoholbasert fiksativ (f.eks. polyvinylalkohol)

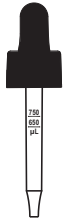
Oppbevaring av prøver Temperatur	Akseptabel oppbevaringslengde	Kommentarer
2 °C – 8 °C	72 timer	Ideelle prøver er mindre enn 24 timer gamle
Frosne ≤ -10 °C	Lengre enn 72 timer	Tin opp ved romtemperatur. Frysing og tining flere ganger kan føre til prøvetapsaktivitet på grunn av toksindegradering.

1. Standard prøvetakings- og håndteringsprosedyrer som brukes internt for avføringsprøver er passende.
2. Avføringsprøver skal tas i rene, lekkasjebestandige beholdere.
3. Oppbevaring av avføringsprøver i *diluenten* anbefales IKKE.
4. Ikke la avføringsprøvene forbli i diluent/konjugat-blandingen i > 24 timer.

PRØVEFORBEREDELSE

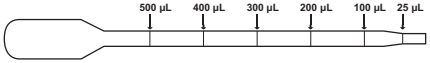
1. Bring alle reagensene og det nødvendige antallet enheter til romtemperatur før bruk. Det anbefales å fjerne reagensene fra skuminnsatsen for å redusere tiden som er nødvendig for å varme opp til romtemperatur.
2. Sett opp og merk ett lite testrør for hver prøve, samt alternative eksterne kontroller etter behov.
3. Ved bruk av den svarte graderte dråpetellerenheten tilsett 750 µl (2. gradering fra spissen) *diluenten* til hvert rør for avføringsprøver. **For prøver i transportmedier, slik som Cary Blair eller C&S, tilsett 650 µl (1. gradering fra spissen) *diluent* til røret.**

Prøvetype	*Diluent*volum
Ferske avføringsprøver	750 µl (2. gradering fra spissen)
Frosne avføringsprøver (frosne ufortynnet)	750 µl (2. gradering fra spissen)
Prøver i transportmedier (Cary Blair, C&S)	650 µl (1. gradering fra spissen)
Eksterne kontroller (positive og negative)	750 µl (2. gradering fra spissen)



4. Tilsett én dråpe *konjugat* (flaske med rødt lokk) til hvert rør.
5. Få én kasserbar plastoverføringspipette (forsynt med settet) for hver prøve – pipettene har økt graderinger ved 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL og 500 µL.

Gradert overføringspipette:



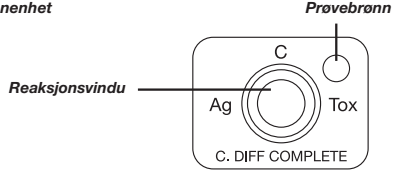
6. **Bland alle prøvene grundig uansett konsistens – det er avgjørende at prøvene suspenderes jevnt før overføring.**
   Flytende/halvfaste prøver – pipetter 25 µl prøve med overføringspipette og dispenser til *diluent/konjugat*-blandingen. Bruk den samme overføringspipetten til å blande den fortynnede prøven.
   Formede/faste prøver – Det må utvises forsiktighet for å ta riktig mengde formet avføring til prøveblandingen. Bland prøven grundig ved bruk av en treapplikatorpinne og overfør en liten del (omtrent 2 mm diameter, tilsvarende 25 µl) av prøven til diluent/konjugat-blandingen. Emulger prøven ved bruk av applikatorpinnen.
   Avføringsprøver i Cary Blair elle C&S transportmedier - pipetter 100 µl (2. gradering fra spissen av overføringspipetten) prøver i *diluent/konjugat-blandingen*.
7. **Alternative eksterne kontrollprøver:**
   Ekstern positiv kontroll - tilsett én dråpe *positiv kontroll* (flaske med grått lokk) i *diluent/konjugat-blandingen*.
   Ekstern negativ kontroll - tilsett 25 µl *diluent* i *diluent/konjugat-blandingen*.

For Instructional Use Only

MERK: Overføring av for lite prøve eller ufullstendig blanding og suspendering av prøven i diluent(konjugat-blandingen kan føre til et falskt negativt testresultat. Tilsetningen av for mye avføringsprøve kan forårsake ugyldige resultater på grunn av begrenset prøveflyt.

TESTPROSEDYRE

1. Få én *membranenhet* pr. prøve og én enhet pr. alternativ ekstern positiv eller negativ kontroll etter behov. Folieposene som inneholder enhetene skal bringes til romtemperatur før de åpnes. Bruk enheten umiddelbart etter åpning. Merk hver enhet tilstrekkelig og orienter den på en flat overflate slik at "C. DIFF COMPLETE"-påskriften er på bunnen av enhete og den lille prøvebrønnen befinner seg øverst i høyre hjørne av enheten.

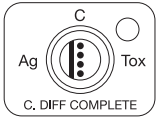


2. Lukk hvert rør med fortynnet prøve og bland grundig. Riktig blanding kan kun oppnås gjennom å utføre vorteks eller ved å vende røret. Når en pasientprøve eller en *positiv kontroll* har blitt fortynnet i *diluent/konjugat*-blandingen, kan den inkuberes ved romtemperatur i hvilken som helst tidsperiode på opptil 24 timer før tilsetning av *membranenheten*.
3. Bruk en ny overføringspipette, overfør 500 µl av den fortynnede prøve-konjugat-blandingen til ***prøvebrønnen*** (mindre hull i øverste høyre hjørne i enheten) til en *membranenhet*, og se til at de flytende prøven utstøtes på viklingsputen på innsiden av *membranenheten*. Ved lasting av prøven i prøvebrønnen se til at spissen på overføringspipetten er vinklet mot *reaksjonsvinduet* (større hull i midten av enheten). .
4. Inkuber enheten ved romtemperatur i 15 minutter – prøven vil vikles gjennom enheten, og et vått område vil spres over *reaksjonsvinduet*.
   MERKNAD FOR PRØVER SOM IKKE MIGRERER:
   Noen ganger kan en fortynnet prøve ikke migrere riktig, og reaksjonsvinduet blir ikke helt vått. Hvis reaksjonsvinduet ikke ser ut til å være helt vått innen 5 minutter etter tilsetning av prøven til prøvebønnen, tilsett 100 µl (4 dråper) diluent til prøvebrønnen og vent i ytterligere 5 minutter (i totalt 20 minutter).
5. Etter inkuberingen tilsett 300 µl *vaskebuffer* til ***reaksjonsvinduet*** ved bruk av den graderte hvite dråpetellerenheten. La *vaskebufferen* flyte gjennom reaksjonsvinduets membran og absorberes fullstendig.
6. Tilsett 2 dråper *substrat* (flaske med hvitt lokk) til ***reaksjonsvinduet***. Avles og registrer resultatene visuelt etter 10 minutter.

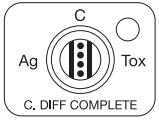
TOLKNING AV RESULTATER

1. Tolkning av testen er mest pålitelig når enheten avleses rett etter utløpet av den 10 minutters reaksjonsperioden. Avles enheten ved en normal arbeidsavstand i et godt belyst område. Se med en synslinje som er rett over enheten.
2. Observer enheten for forekomst av blå prikker i midten av *reaksjonsvinduet*, hvilket representerer den interne positive kontrollen. Forekomsten av eventuell kontrollprikk(er) representerer en gyldig intern kontroll. Bakgrunnen kan se ut til å være hvit til lyseblå i fargen. Observer enheten for forekomst av blå linjer på "Ag"- og "Tox"-sidene av *reaksjonsvinduet*, hvilket representerer testlinjene. Linjene kan vises svake til mørke i intensitet.
3. **Positivt antigenresultat ("Ag"):** Et positivt antigenresultat kan tolkes når som mellom tilsetningen av *substratet* og den 10-minutters avlesingstiden. For et positivt antigenresultat er den blå "Ag"-linjen og den stiplede blå kontrolllinjen nedenfor "C" er synlig (figur 1a). Linjene kan vises svake til mørke i intensitet. En tydelig delvis linje tolkes som et positivt resultat. Ikke tolk membranmisfarging som et positivt resultat. Et positivt resultat indikerer tilstedeværelsen av *C. difficile*.
4. **Positivt antigen- og toksinresultat ("Tox"):** Hvis antigenresultatet er positivt (dvs. en blå "Ag"-linje og en stiplet blå kontrollinje under "C" er synlig), fortsett til tolkningen av toksinresultatet. Et positivt toksinresultat kan tolkes når som mellom tilsetningen av *substratet* og den 10-minutters avlesingstiden. For et positivt toksinresultat finnes en synlig blå "Tox"-linje (figur 1b). Linjen kan vises svake til mørke i intensitet. En tydelig delvis linje tolkes som et positivt resultat. Ikke tolk membranmisfarging som et positivt resultat. Et positivt resultat indikerer tilstedeværelsen av *C. difficile*-toksin.
5. **Negativt resultat:** En test kan ikke tolkes som negativ eller ugyldig inntil 10 minutter etter tilsetning av *substratet*. En enkelt blå stiplet linje er synlig i midten av *reaksjonsvinduet,* under "C", og ingen testlinjer er synlige på "Ag"-siden eller "Tox"-siden av *reaksjonsvinduet* (figur 1c). Et negativt resultat i antigendelen indikerer at *C. difficile*-antigenet enten er fraværende i prøven eller at det er under påvisningsgrensen til testen. Et negativt resultat i toksindelen indikerer at C. difficile-toksinet enten er fraværende i prøven eller at det er under påvisningsgrensen til testen.
6. **Ugyldig resultat:** Ingen linjer er synlige i reaksjonsvinduet (figur 1d). Testresultatet er ugyldig hvis en blåstiplet linje ikke er til stede under "C" ved fullføring av reaksjonsperioden (figur 1e, 1f, 1g).
7. **Negativt antigen ("Ag"), positivt toksin ("Tox"):** En lav prosentandel prøve kan teste negativt for antigen, men positivt for toksin. Disse prøvene skal anses som ubestemmelige og testes på nytt ved bruk av en fersk prøve (figur 1h). Hvis prøven igjen tester negativt for antigen, men positivt for toksin, rapporter som positivt toksinresultat.

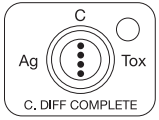
FIGUR 1: *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® TOLKNING AV RESULTATER



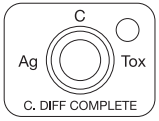
Figur 1a
Positivt antigenresultat



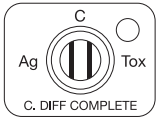
Figur 1b
Positivt antigen
- og toksinresultat



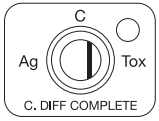
Figur 1c
Negativt resultat



Figur 1d
Ugyldig resultat



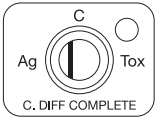
Figur 1e
Ugyldig resultat



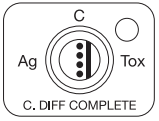
Figur 1f
Ugyldig resultat

For Institutional Use Only

NO



Figur 1g
Ugyldig resultat



Figur 1h
Se nr. 7 for tolkning

KVALITETSKONTROLL

Internt: En stiplet blå linje må være synlig i midten av *reaksjonsvinduet*, under "C" på hver *membranenhet* som testes. Forekomsten av de blå kontrollprikkene bekrefter at prøven og reagensene ble riktig tilsatt, at reagensene var aktive på tidspunktet for utføring av analysen og at prøven migrerte riktig gjennom *membranenheten*. Det bekrefter også reaktiviteten til de andre reagensene som er tilknyttet analysen. En uniform bakgrunn i resultatområdet anses som en intern negativ kontroll. Hvis testen har blitt utført riktig, og reagensene fungerer riktig, vil bakgrunnen være hvit for å gi et tydelig resultat.
Eksternt: Reaktiviteten til *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-kitet skal verifiseres ved mottak ved bruk av den *positive kontrollen* og den negative kontrollen (*diluent*). Den *positive kontrollen* leveres med kitet (flaske med grått lokk). Den *positive kontrollen* bekrefter reaktiviteten til de andre reagensene som er tilknyttet analysen, og er ikke beregnet til å garantere presisjon ved analytisk analyse-cut-off. *Diluenten* brukes til den negative kontrollen. Flere tester kan utføres med kontrollene for å oppfylle kravene i lokale, statlige og/eller nasjonale forskrifter og/eller akkrediteringsorganisasjoner.

BEGRENSNINGER

1. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen brukes til å påvise C. difficile-antigen og toksin(er) i avføringsprøver. Testen bekrefter tilstedeværelse av toksin i avføring, og denne informasjonen skal tas i vurdering av legen i lys av den kliniske historikken og den fysiske undersøkelsen av pasienten. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen vil påvise nivåer av toksin A ved ≥ 0,63 ng/ml, toksin B ved ≥ 0,16 ng/ml og glutamatdehydrogenase ved ≥ 0,8 ng/ml.
2. Avføringsprøver er ekstremt komplekse. Optimale resultater med *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen oppnås med prøvene som er mindre enn 24 timer gamle. De fleste ufortynnede prøvene kan oppbevares mellom 2 °C og 8 °C i 72 timer før det merkes betydelig forringelse av toksinet. Hvis prøvene ikke analyseres innenfor denne tidsperioden, kan de fryses og tines opp. Men gjentatt frysing og tining kan imidlertid føre til tap av immunreaktiviteten til antigen og toksin A og B.
3. Noen prøver kan gi svake reaksjoner. Dette kan skyldes flere faktorer, slik som tilstedeværelse av lave nivåer av antigen og/eller toksin, tilstedeværelsen av bindende stoffer eller inaktiverende enzymer i avføringen. Linjene kan vises svake til mørke i intensitet. Disse prøvene skal rapporteres som positive hvis noen blå linje, selv en delvis linje, er synlig. En tydelig delvis blå linje tolkes som et positivt resultat.
4. Avføringsprøver konserveres i 10 % formalin, mertiolatformalin, natriumacetatformalin eller polyvinylalkohol kan ikke brukes.
5. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen er kvalitativ. Intensiteten til fargen skal ikke tolkes kvantitativt.
6. Noen isolater av *C. sordellii* kan reagere i *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen på grunn av produksjonen av immunologisk relaterte toksiner (1).
7. Koloniseringshastigheter på opptil 50 % har blitt rapportert hos spedbarn. En høy hastighet har også blitt rapportert hos cystisk fibrosepasienter (1,3). Resultatene kan se positive ut i disse gruppene, men skal ses i sammenheng med potensialet for å være en kolonisert bærer.
8. Den eneste ikke-*C. difficile*-organismen som reagerer i toksindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen var *Clostridium sordellii* VPI 9048. Denne stammen produserer toksin HT og LT, som er homologe for respektivt toksin A og B.
9. Det finnes ingen data om virkningene av skyllinger, bariumklyster, laksativer eller tarmklargjøringer på ytelsen til *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen. Alle disse prosedyrene kan føre til omfattende fortynning eller tilstedeværelse av tilsetningsmidler som kan påvirke testytelsen.

FORVENTEDE VERDIER

Clostridium difficile-sykdommen er primært en nosocomial sykdom hos eldre pasienter, og frekvensen til sykdommen avhenger av faktorer slik som pasientpopulasjon, type institusjon og epidemiologi. Den rapporterte forekomsten av *C. difficile*-sykdom hos pasienter med antibiotika-assosiert diaré kan strekke seg fra 5 til 20 %, og sykehusene kan oppleve rater som er lavere eller høyere enn dette området. Det er viktig å vurdere alle testresultater i sammenheng med kliniske symptomer fordi noen friske voksne og store antall friske spedbarn (opptil 50 %) vil være positive for *C. difficile*-toksin. I tillegg har *C. difficile*-bæringsrater på 22 % til 32 % blitt rapportert i cystisk fibrose-pasienter (1,3). I studiene som ble gjennomført for denne enheten, ved bruk av symptomatiske pasienter, var forekomsten av toksin A og B 12 %, og GDH var 18 %. Et positivt resultat i antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen bekrefter tilstedeværelsen av *C. difficile* i en avføringsprøve; et negativt resultat indikerer fraværet av organismen. Et positivt resultat i toksindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® bekrefter tilstedeværelsen av *C. difficile*-toksin i en avføringsprøve; et negativt resultat indikerer fraværet av toksinet eller tilstrekkelige nivåer av toksin for påvisning.

YTELSESKARAKTERISTIKKER

Klinisk evaluering av antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen
Antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen ble sammenlignet med bakteriell kultur. Prøver som er inkludert i evalueringen ble innlevert til kliniske laboratorier for rutinemessig testing. Bakteriekulturtesten ble utført i henhold til interne prosedyrer. Resultatene vises i tabell 1.

Tabell 1. Sammendrag av klinisk ytelse som sammenligner *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testen med bakteriell kultur.

n = 1126	Bakteriell kultur Positiv	Bakteriell kultur Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje positiv	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje negativ	21	842

		95 % konfidensgrenser
Sensitivitet	90,5%	85,7 – 93,9
Spesifisitet	93,1%	91,2 – 94,7
Prediktiv positiv verdi	76,4%	70,7 – 81,3
Prediktiv negativ verdi	97,6%	96,2 – 98,4
Korrelasjon	92,6%	91,8 – 93,4

Uoverensstemmende prøver ble evaluert ved bruk av aktuelle ELISA-tester for *C. difficile* glutamatdehydrogenase.
29 av de 62 falske positive prøvene var positive med en annen GDH-test og ble ansett som ekte positive.

Control Information Only

13 av de 21 falske negative prøvene var negative med en annen GDH-test og ble ansett som ekte negative.

Antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen ble sammenlignet med vevkulturanalysen for påvisning av C. difficile-toksinet. Prøver som er inkludert i evalueringen ble innlevert til kliniske laboratorier for rutinemessig testing. Resultatene vises i tabell 2. Antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen påviste 98,7 % av de vevskultur-positive prøvene.

Tabell 2. Sammendrag av klinisk ytelse som sammenligner *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen med vevskulturanalysen.

n = 1126	Vevskultur Positiv	Vevskultur Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje positiv	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje negativ	2	861

Klinisk evaluering av toksindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen
Toksindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen ble sammenlignet med vevskulturanalysen ved to kliniske laboratorier og internt hos TECHLAB, Inc. Prøvene som var inkludert i evalueringen, ble innlevert til de kliniske laboratoriene for rutinemessig testing. Resultatene vises i tabell 3.

Tabell 3. Sammendrag av klinisk ytelse som sammenligner *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen med vevskulturanalysen.

n = 1126	Vevskultur Positiv	Vevskultur Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksinlinje positiv	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksinlinje negativ	19	964

		95 % konfidensgrenser
Sensitivitet	87,8%	81,4 - 92,3
Spesifisitet	99,4%	98,6 - 99,7
Prediktiv positiv verdi	95,8%	90,7 - 98,3
Prediktiv negativ verdi	98,1%	96,9 - 98,8
Korrelasjon	97,8%	97,6 - 98,0

Uoverensstemmende prøver ble evaluert ved bruk av aktuelle ELISA-tester for toksin A og B.
5 av de 6 falske positive prøvene var positive med ELISA og ble ansett som ekte positive.
12 av de 19 falske negative prøvene var negative med ELISA og ble ansett som ekte negative.

VIRKNING AV AVFØRINGSPRØVENS KONSISTENS

Virkningen av avføringsprøvens konsistens på *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen
Reaksjonen til avføringsprøvene av varierende konsistenser i antigendelen (n = 978) og toksindelen (n = 981) til *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen vises i tabell 4 og 5. Prosentandelene positive reaksjoner ved bruk av enten kulturanalysen eller *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen var lignende i alle tre typer avføringsprøver (flytende, halvfast og fast). Alle prøvene ble innsendt for C. difficile-testing. Grunnlaget for innsendingen var den kliniske historikken til pasienten og ikke konsistensen på prøven. I antigendelen viste resultatene at *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen ga lignende ytelsen som bakteriell kultur ved testing av prøver av ulik konsistens. I toksindelen viste resultatene at *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen ga lignende ytelsen som vevskulturanalyse ved testing av prøver av ulik konsistens.

Tabell 4. Reaksjon med avføringsprøver av ulik konsistens i antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen

Antall prøver (n = 978)	Flytende prøver (n = 335)	Halvfaste prøver (n = 522)	Faste prøver (n = 121)
Positiv med bakteriekulturanalyse	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje positiv	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Negativ med bakteriekulturanalyse	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antigenlinje negativ	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tabell 5. Reaksjon med avføringsprøver av ulik konsistens i toksindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen

Antall prøver (n = 981)	Flytende prøver (n = 336)	Halvfaste prøver (n = 523)	Faste prøver (n = 122)
Positiv med vevskulturanalyse	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksinlinje positiv	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Negativ med vevskulturanalyse	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksinlinje negativ	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

For Instructional Use Only

ANALYTISK FØLSOMHET
Cutoff for analysen ble etablert ved konsentrasjoner på 0,63 ng/ml for toksin A, 0,16 ng/ml for toksin B og 0,8 ng/ml for glutamatdehydrogenase.

REPRODUSERBARHET
Reproduserbarheten til *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen ble bestemt ved bruk av 12 avføringsprøver som ble kodet fo å forhindre identifiseringen i løpet av testingen. Testingen ble utført ved 3 uavhengige laboratorier, som testet prøvene i 3 dager. Prøvene ga de forventede resultatene 100 % av tiden.

KRYSSREAKTIVITET
Avføringsprøver som ble inokulert med følgende mikroorganismer til en endelig konsentrasjon på omtrent 10^8 eller høyere organismer pr. ml reagerte ikke i antigen- eller toksindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen:

Bakterie eller patogen: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (non-toksigen), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Den eneste ikke-*C. difficile*-organismen som reagerer i toksindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen var *Clostridium sordellii* VPI 9048. Denne stammen produserer toksin HT og LT, som er homologe for respektivt toksin A og B.

De følgende virusene på $10^{3,3}$ til $10^{8,25}$ TCID-enhete pr. 0,2 ml reagete ikke i *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen:

Virus: Adenovirus type 1, 2, 3, 5, 40, 41, humant coronavirus, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, echovirus 9, 11, 18, 22, 33, enterovirus type 68, 69, 70, 71, rotavirus.

INTERFERERENDE STOFFER
De følgende stoffene (amerikansk formel) hadde ingen virkning på testresultatene når de var til stede i avføringen i de angitte konsentrasjonene: mucin (3,5 % w/v), humant blod (40 % v/v), bariumsulfat (5 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), stearin-/palmitinsyre (40 % w/v), metronidazol (0,25 % w/v), vancomycin (0,25 % w/v).

REAKSJONEN TIL KLINISKE ISOLATER SOM FÅS PÅ CYKLOSERINCEFOKSITINFRUKTOSEAGAR (CCFA)
Totalt 103 *C. difficile* kliniske isolater, som fås fra anatomisk bakteriekultur på CCFA etter 3 dager ved 37 °C, ble testet i *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testen. For analysen ble enkelte kolonier plukket og suspendert i *diluent* som anbefalt for avføringsprøver. Alle 103 isolater ga en positiv antigenreaksjon i testen.

70 av de 103 isolatene (68 %) var fra avføringsprøver som var positive for *C. difficile*-toksinet gjennom vevkulturanalyse. Av disse ga 56 (80 %) en positiv toksinreaksjon ved screening etter anaerob vekst på CCFA i 3 dager ved 37 °C.

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

AVSEDD ANVÄNDNING

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testet är en snabb immunoanalys av membranenzym för samtidigt påvisande av *Clostridium difficile* glutamatdehydrogenasantigen och toxinerna A och B i feacesprover. Testet påvisar*C. difficile* glutamatdehydrogenasantigen, som en undersökning för förekomst av *C. difficile* och bekräftar förekomst av toxigenisk *C. difficile* genom påvisande av toxinerna A och B i feacesprover från personer med misstänkt *C. difficile*-sjukdom. Testet används för att underlätta diagnosen *C. difficile*-sjukdom. Resultaten ska som med andra *C. difficile*-tester övervägas tillsammans med patientens anamnes.

FÖRKLARING

Många patienter utvecklar mag-tarmbesvär som varierar från lindrig diarré till svår pseudomembranös kolit efter antibiotikabehandling. Många fall av lindrigare former av mag-tarmsjukdom och de flesta fall av pseudomembranös kolit orsakas av toxigeniska stammar av *Clostridium difficile* (1). Denna organism är en opportunistisk anaerob bakterie som växer i tarmen när normalfloran har förändrats av antibiotikumet. Toxigeniska stammar av *C. difficile* bär generna som kodar för toxinerna medan icke-toxigeniska stammar inte bär toxingenerna. Sjukdomsdebuten är knuten till toxinerna som bildas av den toxigeniska organismen. De kliniska symtomen i samband med sjukdomen antas primärt bero på toxin A, som är ett vävnadsskadande enterotoxin (2,3). *C. difficile* bildar även ett andra toxin som benämns toxin B. Toxin B, som har kallats för organismens cytotoxin, är toxinet som påvisas av den vävnadsodlingsanalys som för närvarande används av många laboratorier. Toxigeniska *C. difficile*-stammar bildar båda toxinerna eller enbart toxin B (4-7). Glutamatdehydrogenasantigenet för *C. difficile* är en bra antigenmarkör för organismen i faeces eftersom det bildas i stora mängder av alla toxigeniska eller icke-toxingeniska stammar (8-10). Antigenet kan påvisas i faecesprover genom användning av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*-testet. Ett positivt resultat i testet för glutamatdehydrogenasantigenet för *C. difficile* bekräftar förekomsten av denna organism i ett faecesprov; ett negativt resultat indikerar frånvaro av organismen. Ett positivt resultat i testet för toxinerna A och B bekräftar förekomst av toxigenisk *C. difficile*.

TESTPRINCIP

C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®-testet använder specifika antikroppar för glutamatdehydrogenasantigen och toxinerna A och B för *C. difficile*. Anordningen innehåller ett reaktionsfönster med tre vertikala linjer för immobiliserade antikroppar. Antigentestets linje (”Ag”) innehåller antikroppar mot *C. difficile* glutamatdehydrogenasantigen. Kontrollinjen (”C”) är en prickig linje som innehåller anti-pepparrotsperoxidasantikroppar (anti-HRP, anti-horseradish peroxidase). Testlinjen för toxinerna A och B (”Tox”) innehåller antikroppar mot toxinerna A och B för *C. difficile* . *Konjugatet* består av antikroppar till glutamatdehydrogenas och antikroppar till toxinerna A och B kopplade till pepparrotsperoxidas (HRP). För att utföra testet tillsätts provet till ett rör som innehåller en blandning av *Spädningsmedel* och *Konjugat*. Den utspädda prov-konjugatblandningen tillsätts till *Provbrunnen* och anordningen tillåts inkuberas till rumstemperatur i 15 minuter. Under inkubationen binds någon glutamatdehydrogenas och toxinerna A och B i provet till antikroppsperoxidaskonjugatet. Antigen-antikropp-konjugatblandningen förflyttas genom ett filterdyna till ett membran där de fångas upp av de immobiliserade glutamatdehydrogenasspecifika antikropparna och toxinerna A-och B-specifika antikropparna i linjerna. *Reaktionsfönstret* tvättas därefter med *Tvättbuffert* och därefter tillsätts *Substrat*. Efter 10 minuters inkubation undersöks ”Ag”-reaktionen visuellt för tecken på en vertikal blå linje på *Reaktionsfönstrets* ”Ag”-sida. En blå linje indikerar ett positivt test. Om ”Ag” är positivt ska ”Tox”-reaktionen undersökas visuellt för tecken på en vertikal blå linje på *Reaktionsfönstrets* ”Tox”-sida. En blå linje indikerar ett positivt test. En positiv ”C”-reaktion, som indikeras av en vertikal blåprickig linje under *Reaktionsfönstrets* ”C”-del, bekräftar att testet fungerar korrekt och att resultaten är giltiga.

MEDFÖLJANDE MATERIAL

MEM DEV — ***Membrananordningar*** – varje påse innehåller 1 anordning

DIL SPE — ***Spädningsmedel* (22 ml per flaska)** – buffrad proteinlösning med graderade pipetter (innehåller 0,05 % ProClin® 300)*

WASH REAG — ***Tvättbuffert* (12 ml per flaska)** – buffrad proteinlösning med graderade pipetter (innehåller 0,05 % ProClin® 300)*

SUBS REAG — ***Substrat* (3,5 ml per flaska)** – lösning som innehåller tetrametylbensidin

CONJ ENZ — ***Konjugat* (2,5 ml per flaska)** – antikroppar specifika för glutamatdehydrogenas kopplade till pepparrotsperoxidas och antikroppar specifika för toxinerna A och B kopplade till pepparrotsperoxidas i en buffrad proteinlösning (innehåller 0,05 % ProClin® 300)*

CONTROL + — ***Positiv kontroll* (2 ml)** – antigen i en buffrad proteinlösning

Plastpipetter för engångsbruk – graderade vid 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL och 500 µL

IVD — För *in vitro*-diagnostiskt bruk

*Signalord: Varning
H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATERIAL OCH UTRUSTNING SOM BEHÖVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER PRODUKTEN

Små provrör (t.ex. mikrocentrifugsrör av plast eller glasrör)
Applikatorpinnar *Stoppur* *Centrifug*
Engångshandskar för hantering av feacesprover *Pipetter och spetsar*

HÅLLBARHET OCH FÖRVARING

Setets utgångsdatum anges på etiketten. Utgångsdatum för varje komponent anges på de enskilda etiketterna. Setet ska förvaras mellan 2 °C och 8 °C.

FÖRSIKTIGHET

1. För in vitro-diagnostiskt bruk. Endast för yrkesmässig användning.
2. Reagenser från olika set får inte blandas eller bytas ut. Använd inte ett set efter passerat utgångsdatum.
3. Varje komponent i setet ska granskas för eventuella tecken på läckage. Granska setet vid leverans för att säkerställa att komponenterna inte är kalla eller varma, när man vidrör dem, på grund av felaktiga fraktförhållanden.
4. Ta fram alla komponenter i RUMSTEMPERATUR FÖRE ANVÄNDNING!
5. Korkar, spetsar och pipetter är färgkodade och ska INTE blandas eller bytas ut!
6. Frys inte reagenserna. Setet ska förvaras mellan 2 °C och 8 °C.

For instructional use only

7. Påsen som innehåller *Membrananordningen* ska ligga i rumstemperatur innan den öppnas. Låt membrananordningar torka före användning.
8. Använd av feacesprover inom 72 timmar efter insamlande för att uppnå optimala resultat. Prover som är frysta kan förlora aktivitet på grund av nedfrysning och upptinande. Om frysta prover används, ska de tinas upp i rumstemperatur.
9. Håll reagensflaskor vertikalt för fördelning av reagenser för att säkerställa jämn droppstorlek och rätt volym.
10. Prover och membrananordningar ska hanteras och kastas som biologiskt riskavfall efter användning.
11. Membrananordningar får inte återanvändas.
12. Testet har optimerats för känslighet och specificitet. Ändringar i den angivna proceduren och/eller av testförhållanden kan påverka testets känslighet och specificitet. Avvik inte från den angivna proceduren.
13. Var uppmärksam på den totala analystiden vid test av fler än ett faecesprov. Tillsätt först *Spädningsmedel* och tillsätt sedan *konjugat* i varje rör med *Spädningsmedel*. Tillsätt sedan provet i röret med *Spädningsmedel/Konjugat*. Blanda alla de utspädda proverna noga och överför till *Membrananordningen*. Inkubationssteget på 15 minuter påbörjas när den sista utspädda prov-konjugatblandningen har överförts till den slutliga *Membrananordningen*.
14. Om *Substrat*-reagenset ändras till en mörkblå/mörklila färg, ring teknisk service för utbyte.
15. Faecesprover kan innehålla potentiellt infektiösa ämnen och ska hanteras på ”Biosäkerhetsnivå 2” enligt rekommendationer i bruksanvisningen ”Biosäkerhet i mikrobiologiska och biomedicinska laboratorier” från CDC/NIH.
16. Använd engångshandskar vid utförande av testet.
17. Reagenserna *konjugat*, *spädningsmedel* och *tvättbuffert* innehåller 0,05 % ProClin® 300 som ett konserveringsmedel. Även om koncentrationen är låg är ProClin® 300 känd för att vara skadligt (hudsensibilisering kan uppstå). Om hudsensibilisering/-irritation eller hudutslag uppstår, kontakta medicinsk rådgivning/uppsök sjukvård. Tag av kontaminerade kläder och tvätta dem innan de används igen. Hantera reagenser enligt gällande föreskrifter för laboratoriesäkerhet och god laboratoriesed. Säkerhetsdatablad för denna produkt finns tillgängliga på begäran. Kontakta teknisk support.
18. Följ nationella och lokala riktlinjer för avfallsbortskaffning.

INSAMLING, HANTERING OCH FÖRVARING AV FEACESPROVER

Tillåtna typer av prover
Färska feacesprover
Frysta faecesprover
Prover i transportmedia (Cary Blair, C&S)

Använd inte
Faecesprover i formalinbaserat fixeringsmedel (t.ex. natriumacetatformalin, 10 % formalin, mertiolatformalin)
Faecesprover i alkoholbaserat fixeringsmedel (t.ex. polyvinylalkohol)

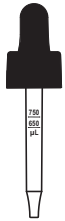
Provförvarings-temperatur	Tillåten förvaringslängd	Kommentarer
2 °C–8 °C	72 timmar	De idealiska proverna är mindre än 24 timmar gamla
Fryst ≤ -10 °C	Längre än 72 timmar	Tinas upp i rumstemperatur. Nedfrysning och upptinande flera gånger kan resultera i förlorad provaktivitet på grund av toxinnedbrytning.

1. Standardprocedurer för insamlande och hantering som används på laboratoriet är lämpliga.
2. Faecesprover ska vara insamlade i rena, täta behållare.
3. Förvaring av prover i *Spädningsmedel* rekommenderas INTE.
4. Låt inte faecesproverna ligga i blandningen av *spädningsmedel/konjugat* i >24 timmar.

FÖRBEREDANDANDE AV PROVER

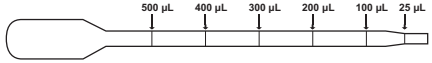
1. Ta fram alla reagenser och erforderligt antal anordningar i rumstemperatur före användning. Det rekommenderas att reagenserna tas ut ur insatsen av skumplast för att sänka tiden för uppvärmning till rumstemperatur.
2. Ställ upp ett litet provrör och sätt på en etikett för varje prov och valfria externa kontroller vid behov.
3. Använd de svarta graderade pipetterna, tillsätt 750 µL (2:a graderingen från spetsen) *spädningsmedel* i varje provrör för feacesprover. **För prover i transportmedia, t.ex. Cary Blair eller C&S ska 650 µL (1:a graderingen från spetsen) av *Spädningsmedel* tillsättas i röret.**

Provtyp	Mängd *spädningsmedel*
Färska feacesprover	750 µL (2:a graderingen från spetsen)
Frysta feacesprover (fryst outspädda)	750 µL (2:a graderingen från spetsen)
Prover i transportmedia (Cary Blair, C&S)	650 µL (1:a graderingen från spetsen)
Externa kontroller (positiv och negativ)	750 µL (2:a graderingen från spetsen)



4. Tillsätt en droppe*Konjugat* (flaska med röd kork) till varje rör.
5. Ta fram en plastpipett för engångsbruk (medföljer setet) för varje prov – pipetterna har graderingar i refief vid 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL och 500 µL.

Graderad överföringspipett:



6. **Blanda alla prover noga oavsett konsistens. Det är viktigt att proverna är jämnt blandade före överföring.**
   Vätske-/halvfasta prover – pipettera 25 µL av provet med en överföringspipett och fördela i *Spädnings-/konjugat*-blandningen. Använd samma överföringspipett för att blanda det utspädda provet.
   Formade/fasta prover – Försiktighet måste vidtas för att tillsätta rätt mängd formad faeces till provblandningen. Blanda provet noga med en träapplikatorpinne och överför en liten portion prov (cirka 2 mm i diameter, motsvarande 25 µL) av provet i spädnings-/konjugatblandningen. Emulgera provet med en applikatorpinne.
   Faecesprover i Cary Blair eller C&S transportmedia - pipett 100 µL (2a graderingen från överföringspipettens spets) av provet i *spädnings-/konjugat*-blandningen.

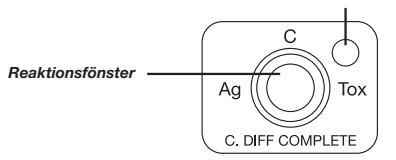
For Instructional Use Only

7. **Valfria externa kontrollprov:**
   Extern positiv kontroll - tillsätt en droppe *Positiv kontroll* (flaska med grå kork) i *Spädnings-/Konjugatblandningen*.
   Extern negativ kontroll - tillsätt 25 µL *Spädningsmedel* i *Spädnings-/Konjugatblandningen*.

OBS! Överförande av ett för litet prov eller underlåtenhet att blanda provet ordentligt i spädnings-/konjugatblandningen, kan resultera i ett falskt negativresultat. Tillsats av för mycket faecesprov kan leda till ogiltiga resultat på grund av begränsat provflöde.

TESTPROCEDUR

1. Ta fram en *Membrananordning* per prov och en anordning per valfri extern positiv eller negativ kontroll vid behov. Foliepåsarna som innehåller anordningarna ska ligga i rumstemperatur innan de öppnas. Använd anordningen omedelbart efter att påsen öppnats. Sätt en etikett på varje anordning på lämpligt sätt och placera den på ett plant underlag så att texten ”C. DIFF COMPLETE” är på anordningens undersida samt att den lilla provbrunnen är på anordningens översta högra hörn.



2. Förslut varje rör med utspätt prov och blanda noga. Ordentlig blandning kan uppnås genom centrifugering eller att vända röret upp och ner flera gånger. När ett patientprov eller en *Positiv kontroll* har spätts ut i *Spädnings-/konjugat*-blandningen kan det inkuberas till rumstemperatur i upp till 24 timmar innan det ska tillsättas till *Membrananordningen*.
3. Överför, med en ny överföringspipett, 500 µL av den utspädda prov-konjugatblandningen till ***Provbrunnen*** (mindre hål på anordningens översta högra hörn) på en *membrananordning*, genom att se till att driva ut vätskeprovet på spridningsdynan i *Membrananordningen*. När provet hälls i provbrunnen, se till att överföringspipettens spets vinklas mot *Reaktionsfönstret* (större hål anordningens mitt).
4. Inkubera anordningen i rumstemperatur i 15 minuter – provet kommer att spridas genom anordningen och ett område kommer att spridas tvärs över *Reaktionsfönstret*.
   VAR UPPMÄRKSAM PÅ PROV SOM MISSLYCKAS ATT SPRIDAS:
   Då och då misslyckas ett utspätt prov att spridas ordentligt och reaktionsfönstret blir inte helt vätt. Om reaktionsfönstret inte verkar bli helt vätt inom 5 minuter efter att provet har tillsats till provbrunnen, tillsätt 100 µL (4 droppar) av spädningsmedel till provbrunnen och vänta ytterligare 5 minuter (under totalt 20 minuter).
5. Tillsätt, efter inkubationen, 300 µL *Tvättbuffert* till ***Reaktionsfönstret*** med hjälp av den graderade vita pipetten. Låt *Tvättbufferten* rinna genom reaktionsfönstrets membran och sugas upp helt.
6. Tillsätt 2 droppar*Substrat* (flaska med vit kork) till ***Reaktionsfönstret***. Läs av och skriv ner resultaten efter 10 minuter.

TOLKNING AV RESULTAT

1. Tolkningen av testet är pålitligast när anordningen avläses omedelbart när reaktionsperioden på 10 minuter gått. Läs av anordningen på normalt arbetsavstånd i ett väl upplyst område. Titta med en synlinje rakt ovanför anordningen.
2. Granska anordningen för tecken på blå prickar i *Reaktionsfönstrets* mitt som motsvarar den interna positiva kontrollen. Tecken på någon(ra) kontrollprick(ar) motsvarar en giltig intern kontroll. Bakgrunden kan vara vit till ljusblå till färgen. Granska anordningen för tecken på blå linjer på ”Ag”-och ”Tox”-sidorna på *Reaktionsfönstret* som motsvarar testlinjerna. Linjerna kan vara bleka till mörka i intensitet.
3. **Positiva antigen (”Ag”)-resultat:** Ett positivt antigenresultat kan tolkas när som helst mellan tillsatsen av *Substrat* och avläsningstidpunkten efter 10 minuter. För ett positivt antigenresultat är den blå ”Ag”-linjen och den blåprickiga kontrollinjen synliga (bild 1a). Linjerna kan vara bleka till mörka i intensitet. En tydlig halv linje tolkas som ett positivt resultat. Tolka inte en missfärgning av membranet som ett positivt resultat. Ett positivt resultat indikerar förekomsten av *C. difficile*.
4. **Positiva antigen-och toxin (”Tox”)-resultat:** Om ett resultat är positivt (dvs. en blå ”Ag”-linje och en blåprickig kontroll under ”C” synliga), fortsätt tolkningen av toxinresultaten. Ett positivt toxinresultat kan tolkas när som helst mellan tillsatsen av *Substrat* och avläsningstidpunkten efter 10 minuter. För ett positivt toxinresultat är en blå ”Tox”-linje synligt (bild 1b). Linjen kan vara blek till mörk i intensitet. En tydlig halv linje tolkas som ett positivt resultat. Tolka inte en missfärgning av membranet som ett positivt resultat. Ett positivt resultat indikerar förekomsten av *C. difficile*-toxin.
5. **Negativa resultat:** Ett test kan inte tolkas som negativt eller ogiltigt förrän 10 minuter efter tillsatsen av *Substrat*. En enda blåprickig linje är synlig i mitten av *Reaktionsfönstret* under ”C” och inga testlinjer är synliga på *Reaktionsfönstrets* ”Ag”-och ”Tox”-sidor, (bild 1c). Ett negativt resultat i antigendelen indikerar frånvaro av *C. difficile*-antigen antingen i provet eller att det ligger under spårbarhetsgränsen för testet. Ett negativt resultat i toxindelen indikerar frånvaro av C. difficile-toxin antingen i provet eller att det ligger under spårbarhetsgränsen för testet.
6. **Ogiltiga resultat:** Inga linjer är synliga i reaktionsfönstret (bild 1d). Testresultatet är ogiltigt om ingen blåprickig linje under ”C” är synlig när reaktionstiden förflutit (bilderna 1e, 1f, 1g).
7. **Negativt antigen (”Ag”), positivt toxin (”Tox”):** En låg procentandel av prover kan ge negativt testresultat för antigen men positivt för toxin. Dessa prover ska anses obestämbara och omtestas med ett färskt prov (bild 1h). Om ett prov omtestas negativt för antigen men positivt för toxin, rapportera det som ett positivt toxinresultat.

BILD 1: *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® TOLKNING AV RESULTAT

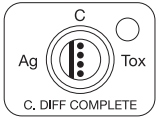


Bild 1a
Positivt antigenresultat

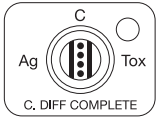


Bild 1b
Positiva antigen
-och toxinresultat

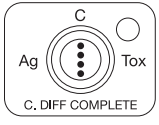


Bild 1c
Negativt resultat

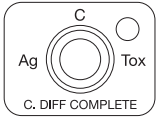


Bild 1d
Ogiltigt resultat

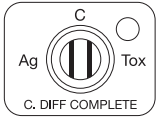


Bild 1e
Ogiltigt resultat

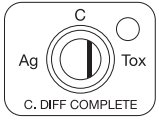


Bild 1f
Ogiltigt resultat

For Instructional Purposes Only

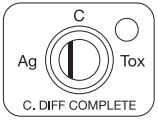


Bild 1g
Ogiltigt resultat

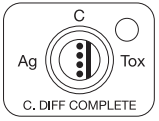


Bild 1h
Se #7 för tolkning

KVALITETSKONTROLL

Intern: En blåprickig linje måste vara synlig i mitten av *Reaktionsfönstret* under ”C” på varje *Membrananordning* som testas. Synliga blå kontrollprickar bekräftar att provet och reagenser tillsats korrekt, att reagenserna var aktiva vid tidpunkten för analysen och att provet spreds ordentligt genom *Membrananordningen*. Det bekräftar också andra reagensers reaktivitet i samband med analysen. En jämn bakgrund i resultatområdet anses som en intern negativ kontroll. Om testet har utförts korrekt och reagenserna fungerar ordentligt blir bakgrunden vit för att ge ett urskiljbart resultat.

Extern: Reaktiviten för *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-setet ska kontrolleras vid leverans med användning av *Positiv kontroll* och negativ kontroll (*Spädningsmedel*). *Positiv kontroll* medföljer setet (flaska med grå kork). *Positiv kontroll* bekräftar andra reagensers reaktivitet i samband med analysen och är inte avsedd för säkerställande av precision vid avslutning av det analytiska testet. *Spädningsmedel* används för den negativa kontrollen. Ytterligare tester kan utföras med kontrollerna för att uppfylla de lokala, statliga och/eller federala kraven och/eller kraven från auktoriserade organisationer.

BEGRÄNSNINGAR

1. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet används för att påvisa C. difficile-antigen och toxin(er) i faecesprover. Testet bekräftar förekomst av toxin i faeces och denna information ska bedömas av en läkare i ljuset av patientens kliniska anamnes och undersökning av patienten. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet påvisar nivåer av toxin A vid ≥0,63 ng/ml, toxin B vid ≥0,16 ng/ml, och glutamatdehydrogenas vid ≥0,8 ng/ml.
2. Faecesprover är ytterst komplexa. Optimala resultat med *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet erhålls med prover som är mindre än 24 timmar gamla. De flesta outspädda prover kan lagras mellan 2 °C och 8 °C under 72 timmar innan markant försämring av toxinet observeras. Om prover inte analyseras inom denna tidsperiod kan de frysas ner och tinas upp. Upprepad nerfrysning och upptinande kan resultera i förlorad immunoreaktivitet av antigen och toxinerna A och B.
3. Vissa prover kan ge svaga reaktioner. Detta kan leda till ett antal faktorer såsom förekomst av låga nivåer av antigen och/eller toxin, förekomst av bindande ämnen eller inaktiverade enzymer i faeces. Linjerna kan vara bleka till mörka i intensitet. Dessa prover ska rapporteras som positiva om en blå linje eller ens en halv linje observeras. En tydlig halv blå linje tolkas som ett positivt resultat
4. Feacesprover bevaras i 10 % formalin, mertiolatformalin, natriumacetatformalin, eller polyvinylalkohol kan inte användas.
5. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet är kvalitativt. Färgintensiteten ska inte tolkas kvantitativt.
6. Vissa isolerade *C. sordellii* kan reagera i *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet på grund av bildande av immunologiskt besläktade toxiner (1).
7. Koloniseringsfrekvenser på upp till 50 % har rapporterats hos spädbarn. En hög frekvens har också rapporterats hos patienter med cystisk fibros (1,3). Resultat kan verka positiva hos dessa grupper men bör betraktas i kombination med risken för att vara en koloniserad bärare.
8. Den enda icke-*C. difficile*-organismen som reagerade i toxindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet var *Clostridium sordellii* VPI 9048. Denna stam bildar toxinerna HT och LT som är homologa till toxinerna A respektive B.
9. Det finns inga data på effekterna av kolonsköljning, bariumsulfatlavemang, laxeringsmedel eller tarmförberedelser prestandan på *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet. Alla dessa procedurer kan resultera i omfattande utspädning eller förekomst av tillsatser som kan påverka testresultatet.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Sjukdomen *Clostridium difficile* är framförallt en nosokomial sjukdom bland äldre patienter och sjukdomens frekvens är beroende på faktorer som patientpopulation, typ av institution och epidemiologi. Den rapporterade frekvensen av sjukdomen *C. difficile* hos patienter med antibiotikarelaterad diarré kan variera från 5 till 20 % och sjukhus kan erfara en lägre eller högre frekvens. Det är viktigt att betrakta alla testresultat tillsammans med kliniska symtom eftersom en del friska vuxna och ett stort antal friska spädbarn (upp till 50 %) kommer att vara positiva för *C. difficile*-toxin. Dessutom har bärarfrekvensen för *C. difficile* på 22 % till 32% rapporterats hos patienter med cystisk fibros (1,3). I studier som utförts för denna anordning på symtomatiska patienter var incidensen för toxinerna A och B 12 % och GDH 18 %. Ett positivt resultat i antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet bekräftar förekomst av *C. difficile* i ett faecesprov; ett negativt resultat indikerar frånvaro av organismen. Ett positivt resultat i toxindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet bekräftar förekomst av *C. difficile*-toxin i ett faecesprov; ett negativt resultat indikerar frånvaro av toxin eller otillräckliga nivåer av toxin för spårbarhet.

PRESTANDAEGENSKAPER

Klinisk utvärdering av antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet

Antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet jämfördes med bakterieodling. Prover som ingick i utvärderingen skickades till kliniska laboratorier för rutinmässig undersökning. Bakterieodlingstestet utfördes enligt rutiner på inrättningen. Resultaten visas i tabell 1.

Tabell 1. Sammanfattning av klinisk prestanda i jämförelse av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet med bakterieodling

n = 1126	Bakterieodling Positiv	Bakterieodling Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Positiv antigenlinje	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Negativ antigenlinje	21	842

		95 % tillförlitlighets-gränser
Känslighet	90,5 %	85,7 – 93,9
Specificitet	93,1 %	91,2 – 94,7
Förutspått positivt värde	76,4 %	70,7 – 81,3
Förutspått negativt värde	97,6 %	96,2 – 98,4
Samband	92,6 %	91,8 – 93,4

For Illustration Only

Avvikande prover utvärderades med användning av ELISA-test för *C. difficile* glutamatdehydrogenasantigen.
Tjugonio av de 62 falskt positiva proverna var positiva av ett annat GHD-test och ansågs sant positiva.
Tretton av de 21 falskt negativa proverna var negativa av ett annat GHD-test och ansågs sant negativa.

Antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet jämfördes med vävnadsodlingsanalys för spårbarhet för C. difficile-toxin. Prover som ingick i utvärderingen skickades till kliniska laboratorier för rutinmässig undersökning. Resultaten visas i tabell 2. Antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet påvisade 98,7 % av vävnadsodlingspositiva prov.

Tabell 2. Sammanfattning av klinisk prestanda i jämförelse av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet med vävnadsodlingsanalys

n = 1126	Vävnadsodling Positiv	Vävnadsodling Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Positiv antigenlinje	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Negativ antigenlinje	2	861

Klinisk utvärdering av toxindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet
Toxindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet jämfördes med vävnadsodlingsanalys vid två kliniska laboratorier och på TECHLAB, Inc. Prover som ingick i utvärderingen skickades till kliniska laboratorier för rutinmässig undersökning. Resultaten visas i tabell 3.

Tabell 3. Sammanfattning av klinisk prestanda i jämförelse av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet med vävnadsodlingsanalys

n = 1126	Vävnadsodling Positiv	Vävnadsodling Negativ
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Positiv toxinlinje	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Negativ toxinlinje	19	964

		95 % tillförlitlighetsgränser
Känslighet	87,8 %	81,4 - 92,3
Specificitet	99,4 %	98,6 - 99,7
Förutspått positivt värde	95,8 %	90,7 - 98,3
Förutspått negativt värde	98,1 %	96,9 - 98,8
Samband	97,8 %	97,6 - 98,0

Avvikande prover utvärderades med användning av ELISA-test för toxinerna A och B.
Fem av de 6 falskt positiva proverna var positiva med ELISA och ansågs sant positiva.
Tolv av de 19 falskt negativa proverna var negativa med ELISA och ansågs sant negativa.

EFFEKT AV KONSISTENS PÅ FEACESPROV

Effekt av konsistens på faecesprov på *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet
Reaktionen för feacesprover av varierande konsistens i antigendelen (n=978) och toxindelen (n=981) av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet visas i tabellerna 4 och 5. Procentandelen av positiva reaktioner med användning av odlingsanalys eller *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet var lika i alla tre typerna av faecesprover (vätska, halvfast och fast). Alla proverna skickades för C. difficile-test. Grunden till skickandet av proverna var patientens kliniska anamnes och inte provets konsistens. I antigendelen visade resultaten att *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet utfördes på samma sätt som bakterieodling vid test av prover av olika konsistens. I toxindelen visade resultaten att *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet utfördes på samma sätt som vävnadsodlingsanalys vid test av prover av olika konsistens.

Tabell 4. Reaktion av feacesprover av varierande konsistens på antigendelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet

Antal prover (n = 978)	Flytande prover (n = 335)	Halvfasta prover (n = 522)	Fasta prover (n = 121)
Positiv genom bakterieodlingsanalys	59 (17,6 %)	110 (21,1 %)	19 (15,7 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Positiv antigenlinje	72 (21,5 %)	128 (24,5 %)	25 (20,7 %)
Negativ genom bakterieodlingsanalys	276 (82,4 %)	412 (78,9 %)	102 (84,3 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Negativ antigenlinje	263 (78,5 %)	394 (75,5 %)	96 (79,3 %)

For Instructional Use Only

Tabell 5. Reaktion av feacesprover av varierande konsistens på toxindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet

Antal prover (n = 981)	Flytande prover (n = 336)	Halvfasta prover (n = 523)	Fasta prover (n = 122)
Positiv genom vävnadsodlingsanalys	43 (12,8 %)	81 (15,5 %)	8 (6,6 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Positiv toxinlinje	42 (12,5 %)	72 (13,8 %)	7 (5,7 %)
Negativ genom vävnadsodlingsanalys	293 (87,2 %)	442 (84,5 %)	114 (93,4 %)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Negativ toxinlinje	294 (87,5%)	451 (86,2 %)	115 (94,3 %)

ANALYTISK KÄNSLIGHET

Avslutningen för analysen fastställdes vid koncentrationer på 0,63 ng/ml för toxin A, 0,16 ng/ml för toxin B och 0,8 ng/ml för glutamatdehydrogenas.

REPRODUCERBARHET

Reproducerbarheten för *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETEE*®-testet fastställdes med 12 feacesprover som kodades för att förhindra identifiering under testet. Testet utfördes vid 3 oberoende laboratorier som testade proverna i 3 dagar. Proverna gav de förväntade resultaten 100 % av tiden.

KORSREAKTIVITET

Faecesprover inokulerade med följande mikroorganismer till en slutlig koncentration på cirka 10^8 eller fler organismer per ml reagerade inte i antigen-eller toxindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETEE*®-testet:
Bakterie eller Patogen: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (icke-toxigen), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*
Den enda icke-*C. difficile*-organismen som reagerade i toxindelen av *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet var *Clostridium sordellii* VPI 9048. Denna stam bildar toxinerna HT och LT som är homologa till toxinerna A respektive B.
Följande virus på $10^{3.3}$ to $10^{8.25}$ TCID-enheter per 0,2 ml reagerade inte i *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet:
Virus: Adenovirus av typerna 1, 2, 3, 5, 40, 41, humant coronavirus, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, echovirus 9, 11, 18, 22, 33, enterovirus typ 68, 69, 70, 71, rotavirus.

STÖRANDE ÄMNEN

Följande ämnen (USA formulering) hade ingen effekt på testresultaten vid förekomst i faeces i angivna koncentrationer: mucin (3,5 % vikt/vol), humanblod (40 % vol/vol), bariumsulfat (5 % vikt/vol), Imodium® (5% vol/vol), Kaopectate® (5 % vol/vol), Pepto-Bismol® (5 % vol/vol), stearin-/palmitinsyra (40 % vikt/vol), metronidazol (0,25 % vikt/vol), vankomycin (0,25 % vikt/vol).

REAKTION PÅ KLINISKA ISOLERAT ERHÅLLNA PÅ CYKLOSERIN-CEFOXITIN-FRUKTOS-AGAR (CCFA)

Totalt 103 kliniskt isolerade *C. difficile* som erhölls genom anaerob bakterieodling på CCFA efter 3 dagar vid 37 °C testades i *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®-testet. För analysen valdes och blandades individuella kolonier i *Spädningsmedel* som rekommenderas för feacesprover. Alla 103 isolater gav en positiv antigenreaktion i testet.
Sjuttio av de 103 isolaterna (68 %) var från feacesprover som var positiva för *C. difficile* -toxin genom vävnadsodlingsanalys. Av dessa gav 56 (80 %) en positiv toxinreaktion vid undersökning efter anaerob växt på CCFA under 3 dagar vid 37 °C.

For International Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

KULLANIM AMACI

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*, tek bir reaksiyon kanalında *Clostridium difficile* glutamat dehidrojenaz antijeni ile A ve B toksinlerinin eşzamanlı olarak algılanmasında kullanılan hızlı bir membran enzimi bağışıklık testidir. Test, *C. difficile* hastalığı olduğundan şüphelenilen kişilerden alınan dışı örneklerinde A ve B toksinleri arayarak toksijen *C. difficile* varlığını doğrulamakta ve *C. difficile* varlığını test ederek *C. difficile* antijeni, glutamat dehidrojenazı bulunup bulunmadığını algılamaktadır. Test, *C. difficile* hastalığının teşhisinde yardımcı bir araç olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Diğer *C. difficile* testleri gibi, sonuçlar hasta geçmişi göz önünde bulundurularak değerlendirilmelidir.

AÇIKLAMA

Antibiyotik tedavisi sonrasında, çoğu hastada gastrointestinal sorunlar görülmektedir ve bunlar orta şiddette diyareden, şiddetli psödomembranöz kolite kadar geniş bir aralıkta değişmektedir. Çoğu durumda, gastrointestinal hastalıkların orta şiddette olan biçimleri ile birçok psödomembranöz kolit rahatsızlığı toksijen *Clostridium difficile* türlerinden kaynaklanmaktadır (1). Bu organizma, normal flora antibiyotik ile değiştiğinde bağırsak içerisinde gelişen fırsatçı bir anaerobik bakteridir. Toksijen *C. difficile* türleri, toksinleri kodlayan genler taşırken, toksijen olmayan türler toksin genleri taşımaz. Hastalık başlangıcı, toksijen organizmalar tarafından üretilen toksinlerle ilgilidir. Hastalık ile ilişkili klinik belirtilerin birincil olarak dokulara hasar veren bir enterotoksin olan A toksini ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır (2,3). *C. difficile* aynı zamanda B toksini adı verilen bir toksin daha üretmektedir. Organizmanın sitotoksini olarak bilinen B toksini, mevcut durumda çoğu laboratuvarda kullanılan doku kültürü testleri tarafından algılanabilmektedir. Toksijen *C. difficile* türleri ya bu iki toksini birden üretmekte ya da yalnızca B toksini üretmektedir (4-7). *C. difficile* glutamat dehidrojenazı dışkıdaki organizmalar için iyi bir antijen göstergesidir, çünkü toksijen olan ya da olmayan tüm türler tarafından üretilmektedir (8-10). Dışkı örneklerindeki antijen *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* testi kullanılarak saptanabilir. *C. difficile* glutamat dehidrojenazı açısından pozitif sonuç veren testler, dışkı örneğinde bu organizmanın bulunduğunu doğrularken, negatif bir sonuç bu organizmanın mevcut olmadığını gösterir. A ve B toksinleri için gerçekleştirilen testin pozitif sonuç vermesi halinde, toksijen *C. difficile* bulunduğu doğrulanmış olur.

TEST PRENSİBİ

C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® testi özel olarak *C. difficile* glutamat dehidrojenaz ile A ve B toksinlerine özel antikorlar kullanılmaktadır. Cihaz, üç adet dikey immobilize antikor çizgisi ile bir adet Reaksiyon Bölmesi bulunmaktadır. Antijen test çizgisi ("Ag") *C. difficile* glutamat dehidrojenaz antikorları içermektedir. Kontrol çizgisi ("C") horseradish peroksidazı (HRP) antikorları içeren bir kesik çizgidir. A ve B toksinleri test çizgisi ("Tox") *C. difficile* A ve B toksinlerinin antikorlarını içermektedir. *Konjugat* glutamat dehidrojenaz, A ve B toksinleri ile horseradish peroksidazı antikorları içermektedir. Testi gerçekleştirmek için, örneğin *Seyreltici* ve *Konjugat* karışımı içeren bir tüpe konulması gerekmektedir. Seyreltilmiş örnek - konjugat karışımı *Örnek Çukuruna* eklenir ve cihazın 15 dakika boyunca oda sıcaklığında enkübe olması beklenir. Enkübasyon sırasında, örnek içerisindeki glutamat dehidrojenaz ile A ve B toksinleri, antikor-peroksidaz konjugatlarına bağlanır. Antijen-antikor-konjugat kompleksleri bir filtre süzgeci içerisinden membrana doğru ilerler ve burada immobilize glutamat dehidrojenaza özel antikor çizgisi ile A ve B toksinlerine özel antikor çizgisi tarafından yakalanır. Bunun ardından, *Reaksiyon Bölmesi Yıkama Tamponu* ile yıkanır ve *Substrat* eklenir. 10 dakikalık enkübasyon dönemi sonrasında, *Reaksiyon Bölmesinin* "Ag" bölümünde dikey mavi çizgi görüntülenip görüntülenmediğine bakılarak "Ag" reaksiyonu görsel olarak doğrulanır. Mavi çizgi, test sonucunun pozitif olduğunu gösterir. "Ag" pozitif olduğunda, *Reaksiyon Bölmesinin* "Tox" bölümünde dikey mavi çizgi görüntülenip görüntülenmediğine bakılarak "Tox" reaksiyonunu görsel olarak doğrulanır. Mavi çizgi, test sonucunun pozitif olduğunu gösterir. *Reaksiyon Bölmesinin* "C" kısmı altında dikey mavi kesik çizgi ile gösterilen pozitif "C" reaksiyonu, testin doğru şekilde çalıştığını ve sonuçların geçerli olduğunu doğrular.

ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLEN MATERYALLER

MEM | DEV — ***Membran Cihazları*** – her kesede 1 cihaz bulunur

DIL | SPE — ***Seyreltici* (her bir şişede 22 mL)** – Kademeli damlalık tertibatı bulunan tamponlu protein solüsyonu (%0,05 ProClin® 300 içerir)*

WASH | REAG — ***Yıkama Tamponu* (her bir şişede 12 mL)** – Kademeli damlalık tertibatı bulunan tamponlu solüsyon (%0,05 ProClin® 300 içerir)*

SUBS | REAG — ***Substrat* (her bir şişede 3,5 mL)** – Tetrametilbenzidin içeren solüsyon

CONJ | ENZ — ***Konjugat* (her bir şişede 2,5 mL)** – Horseradish peroksidaz ile birleşmiş olan glutamat dehidrojenaza özel antikor ile tamponlu bir protein solüsyonu içinde horseradish peroksidaz ile birleşmiş olan A ve B toksinlerine özel antikorlar (%0,05 ProClin® 300 içerir)*

CONTROL | + — ***Pozitif Kontrol* (2 mL)** – Tamponlu protein solüsyonu içerisinde antijen

Tek kullanımlık plastik aktarım pipetleri – 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL ve 500 µL ölçekli

IVD — *In vitro* tanısal kullanım için

* İşaret Sözcüğü: Uyarı
H317: Alerjik deri reaksiyonuna sebep olabilir
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

GEREKLİ OLAN ANCAK ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MATERYAL VE EKİPMANLAR

Küçük test tüpleri (örn. plastik mikrosantrifüj tüpleri ya da cam tüpler)
Uygulama çubukları *Zamanlayıcı* *Vorteks karıştırıcı*
Dışkı örnekleri ile ilgilenirken kullanılacak tek kullanımlık eldivenler *Pipet cihazı ve uçları*

RAF ÖMRÜ VE SAKLAMA

Kitin son kullanım tarihi etiket üzerinde verilmiştir. Her bir bileşenin son kullanım tarihi, bileşen etiketlerinde verilmiştir. Kit 2°C ila 8°C arası sıcaklıkta saklanmalıdır.

ÖNLEMLER

1. *In vitro* tanısal kullanım içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
2. Farklı kitlerin ayıraçları karıştırılmamalı ya da dönüşümlü olarak kullanılmamalıdır. Son kullanım tarihi geçmiş kitleri kullanmayın.
3. Kit içerisindeki her bir bileşen, sızıntı emarelerine karşı kontrol edilmelidir. Teslim alındığında, kiti kontrol ederek bileşenlerin uygunsuz nakliye koşulları nedeniyle donmuş ya da ısınmış olup olmadığına bakın.
4. KULLANIM ÖNCESİNDE tüm bileşenleri ODA SICAKLIĞINA getirin!
5. Kapaklar, uçlar ve damlalık tertibatları renklerle işaretlenmiştir, bunları KARIŞTIRMAYIN ya da birbirinin yerine KULLANMAYIN!

TR

Instructional Use Only

6. Ayıraçları dondurmayın. Kit 2°C ila 8°C arası sıcaklıkta saklanmalıdır.
7. *Membran Cihazını* içeren kese açılmadan önce oda sıcaklığında olmalıdır. Kullanım öncesinde membran cihazlarının kuru olmasına dikkat edin.
8. En iyi sonuçları elde etmek için 72 saat içerisinde topladığınız dışkı örneklerini kullanın. Donmuş örnekler, donma ve çözünme nedeniyle aktifliğini kaybedebilir. Donmuş örnek kullanacaksanız, örnekleri oda sıcaklığında çözün.
9. Ayıraçları hazırlarken damla boyutunun tutarlı, hacmin de doğru olmasını sağlamak için ayıraç şişelerini dikey tutun.
10. Örnekler ile membran cihazları biyolojik tehlike içeren madde gibi kullanılmalı ve kullanım sonrasında da bu şekilde atılmalıdır.
11. Membran cihazları yeniden kullanılamaz.
12. Test hassasiyet ve özgüllük açısından optimize edilmiştir. Belirtilen prosedür ve/veya test koşullarında değişiklik olması, testin hassasiyetini ve özgüllüğünü etkileyebilir. Belirtilen prosedürün dışına çıkmayın.
13. Birden fazla dışkı örneğini test ederken toplam test süresine dikkat edin. Önce *Seyreltici* ekleyin ve ardından her bir *Seyreltici* tüpüne *Konjugat* ekleyin. Daha sonra, *Seyreltici/Konjugat* tüpüne örneği ekleyin. Seyreltilmiş örnekleri iyice karıştırın ve *Membran Cihazına* aktarın. 15 dakikalık enkübasyon aşaması, en son seyreltilmiş olan örnek-konjugat karışımı son *Membran Cihazına* eklendikten sonra başlar.
14. *Substrat* ayıracı koyu mavi/mor bir renk alırsa, değiştirilmesi için teknik servisi arayın.
15. Dışkı örnekleri, potansiyel olarak bulaşıcı maddeler içerebilir ve CDC/NIH Kılavuzu "Mikrobiyolojik ve Biyomedikal Laboratuvarlarda Biyogüvenlik" içerisinde önerilen şekilde "2. Seviye Biyogüvenlik" tedbirleri çerçevesinde kullanılmalıdır.
16. Testi gerçekleştirirk*en tek kullanımlık eldiven takın.*
17. *Konjugat,* Seyreltici ve *Yıkama Tamponu* ayırıcılarında koruyucu olarak %0,05 ProClin® 300 bulunur. Derişiminin düşük olmasına rağmen, ProClin® 300'ün zararlı olduğu bilinmektedir (deride hassasiyet oluşabilir). Deride hassasiyet/tahriş ya da kızarıklık meydana gelirse tıbbi/tavsiye yardım alın. Kontamine olan elbiseleri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. Ayıraçlarla ilgili işlemlerde mevcut laboratuvar güvenliği yönetmeliklerine ve iyi laboratuvar uygulamalarına riayet edin. Bu ürünün Güvenlik Veri Kağıtları talep üzerine temin edilebilir; teknik desteğe başvurun.
18. Atık bertaraf yönetmeliklerine dair ulusal, bölgesel ve yerel kurallara uyun.

DIŞKI ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI, SAKLANMASI VE KULLANILMASI

Kabul Edilebilir Örnek Türleri
Taze Dışkı Örnekleri
Donmuş Dışkı Örnekleri
Nakliye aracı (Cary Blair, C&S) içerisinde tutulan örnekler

Kullanmayın
Formalin bazlı fiksatiflerde (örn. sodyum asetat formalin, %10 formalin, mertiolat formalin) tutulan dışkı örnekleri
Alkol bazlı fiksatiflerde (örn. polivinil alkol) içerisinde tutulan dışkı örnekleri

Örnek Saklama Sıcaklık	Kabul edilebilir saklama süresi uzunluğu	Yorumlar
2°C – 8°C	72 saat	İdeal örnekler 24 saatten daha kısa süre saklanmış olanlardır
Donmuş ≤ -10°C	72 saatten daha uzun süre	Oda sıcaklığında çözün. Birden fazla donma ve çözünme, toksin bozunması nedeniyle örnek aktifliğinde kayıp görülmesine neden olabilir.

1. Dışkı örnekleri için kurum içinde kullanılan standart toplama ve işleme prosedürleri uygundur.
2. Dışkı örnekleri temiz ve sızdırmaz kaplara alınmalıdır.
3. Dışkı örneklerinin *Seyreltici* içerisinde saklanması ÖNERİLMEZ.
4. Dışkı örneklerinin 24 saatten daha uzun süre *Seyreltici/Konjugat* içerisinde kalmasına izin vermeyin.

ÖRNEK HAZIRLAMA

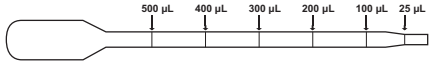
1. Kullanım öncesinde tüm ayıraçları ve istenilen cihaz sayısını oda sıcaklığına getirin. Ayıraçların oda sıcaklığına gelmesi için gereken süreyi azaltmak amacıyla reaktifleri köpük koruyucudan çıkarmanız önerilir.
2. Her bir örnek için küçük bir test tüpü ayırın ve etiketleyin, gerekli olduğunda bunları harici kontroller için de gerçekleştirin.
3. Siyah ölçekli damlalık tertibatını kullanarak, dışkı örnekleri için her bir tüpe 750 µL (uçtan 2. ölçek) *Seyreltici* ekleyin. **Cary Blair ya da C&S gibi nakliye araçları içerisinde örnekler için tüpe 650 µL *Seyreltici* ekleyin (ucun 1. kademesinden).**

Örnek Türü	*Seyreltici* Hacmi
Taze Dışkı Örnekleri	750 µL (uçtan 2. ölçek)
Donmuş Dışkı Örnekleri (donmuş ve seyreltilmemiş)	750 µL (uçtan 2. ölçek)
Nakliye aracı (Cary Blair, C&S) içerisinde tutulan örnekler	650 µL (ucun 1. kademesinden)
Harici Kontroller (pozitif ve negatif)	750 µL (uçtan 2. ölçek)



4. Her bir tüpe bir damla *Konjugat* (kırmızı kapaklı şişe) ekleyin.
5. Her bir örnek için bir adet tek kullanımlık plastik transfer pipeti (kitle birlikte verilmiştir) alın - pipetlerin 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL ve 500 µL olarak artan ölçekleri vardır.

Ölçekli Aktarım Pipeti:



6. **Kıvama bakmadan tüm örnekleri iyice karıştırın- aktarım öncesinde örneklerin eşit derecede karışmış olması gerekmektedir.**
   Sıvı/Yarı-katı örnekler – bir aktarım pipeti ile 25 µL örnek alın ve *Seyreltici/Konjugat* karışımına ekleyin. Seyreltilmiş örneği karıştırmak için aynı aktarım pipetini kullanın.
   Şekilli/Katı örnekler – Örnek karışımına doğru miktarda şekilli dışkı eklenmesi için dikkatli olunması gerekmektedir. Örneği ahşap bir uygulama çubuğu kullanarak iyice karıştırın ve az miktarda (yaklaşık 2 mm çaplı, 25 µL miktarda) örneği Seyreltici/Konjugat karışımına aktarın. Uygulama çubuğunu kullanarak örneği emülsiyon haline getirin.
   Cary Blair ya da C&S nakliye araçları içerisindeki dışkı örnekleri - pipet kullanarak 100 µL (aktarım pipetinin ucundan 2. ölçek) örneği *Seyreltici/Konjugat* karışımına alın.

For Institutional Use Only

7. **Opsiyonel Harici Kontrol Örnekleri:**
   Harici Pozitif Kontrol - *Seyreltici/Konjugat* karışımına bir damla *Pozitif Kontrol* (gri kapaklı şişe) ekleyin.
   Harici Negatif Kontrol - *Seyreltici/Konjugat* karışımına 25 µL *Seyreltici* ekleyin.

NOT: Çok az örnek aktarılması ya da örneğin karıştırılmaması veya Seyreltici/Konjugat karışımında yeteri kadar bekletilmemesi, yalancı negatif test sonucu alınmasına neden olabilir. Çok fazla dışkı örneği eklenmesi, kısıtlı örnek akışı nedeniyle geçersiz sonuçlar alınmasına neden olabilir.

TEST PROSEDÜRÜ

1. Örnek başına bir *Membran Cihazı* alın ve gerekli olduğunda, opsiyonel harici pozitif veya negatif kontrol için bir cihaz alın. Cihazların içerisinde olduğu folyolar açılmadan önce oda sıcaklığına getirilmelidir. Cihazı folyoyu açar açmaz kullanın. Her bir cihazı uygun şekilde etiketleyin ve düz bir yüzey üzerinde, "C. DIFF COMPLETE" yazısı aşağı, küçük Örnek Çukuru da cihazın sağ üst köşesine gelecek şekilde tutun.

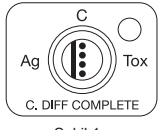


2. Her bir seyreltilmiş örnek tüpünü kapatın ve iyice karıştırın. Tüpü girdap oluşturacak şekilde çalkalamak ya da yukarı aşağı çevirmek suretiyle uygun karışım elde edilebilir. Hasta örneği ya da *Pozitif Kontrol Seyreltici/Konjugat* karışımı içerisinde seyreltildikten sonra, *Membran Cihazına* eklenmeden önceki 24 saatlik döneme kadar oda sıcaklığında enkübe edilebilir.
3. Yeni bir aktarım pipeti kullanarak 500 µL seyreltilmiş örnek-konjugat karışımını *Membran Cihazının* ***Örnek Çukuruna*** (cihazın sağ üst köşesindeki küçük delik) ekleyin, bu sırada sıvı örneğin *Membran Cihazı* içindeki emme bölümüne geçmesine özen gösterin. Örneği, örnek çukuruna alırken, aktarım pipetinin uç kısmının *Reaksiyon Bölmesine* (cihazın orta kısmındaki büyük delik) doğru bir açıda olduğundan emin olun.
4. Cihazı 15 dakika boyunca oda sıcaklığında enkübe edin – örnek cihaz tarafından emilecek ve ıslak alan *Reaksiyon Bölmesi* boyunca yayılacaktır.
   DAĞILMAYAN ÖRNEKLER İÇİN NOT:
   Bazı durumlarda, seyreltilmiş bir örnek uygun şekilde dağılmaz ve Reaksiyon Bölmesi tamamen ıslanmaz. Reaksiyon Bölmesi, örnek, Örnek Çukuruna eklendikten sonraki 5 dakika içerisinde tamamen ıslanmazsa, Örnek Çukuruna 100 µL (4 damla) Seyreltici ekleyin ve 5 dakika daha bekleyin (toplam 20 dakika).
5. Enkübasyon sonrasında, ölçekli damlalık tertibatını kullanarak, 300 µL *Yıkama Tamponunu* ***Reaksiyon Bölmesine*** ekleyin. *Yıkama Tamponunun* Reaksiyon Bölmesi membranından geçmesini ve tamamen emilmesini bekleyin.
6. ***Reaksiyon Bölmesine*** 2 damla *Substrat* (beyaz kapaklı şişe) ekleyin. 10 dakika sonra sonuçları görsel olarak gözlemleyin ve kaydedin.

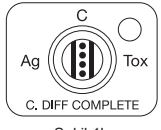
SONUÇLARIN YORUMLANMASI

1. Cihaz 10 dakikalık reaksiyon süresi bittikten hemen sonra incelendiğinde, test en güvenilir şekilde yorumlanır. Cihazı, normal çalışma mesafesinde, iyi ışıklandırılmış bir alanda gözlemleyin. Doğrudan cihazın üzerinden bakın.
2. Dahili pozitif kontrolü temsil eden şekilde *Reaksiyon Bölmesinin* orta kısmında mavi noktalar olup olmadığına bakın. Kontrol noktasının/noktalarının görüntülenmesi, geçerli bir dahili kontrol olduğunu gösterir. Arka plan, açık mavi renkte görülebilir. *Reaksiyon Bölmesinin* test çizgilerini temsil eden "Ag" ve "Tox" kısımlarında mavi çizgi olup olmadığına bakın. Çizgiler yoğunluğa bağlı olarak açık veya koyu olarak görüntülenebilir.
3. **Pozitif Antijen ("Ag") Sonucu:** Pozitif bir antijen sonucu *Substrat* eklenmesinden 10 dakikalık test değerlendirme süresinin sonuna kadarki süreçte herhangi bir noktada yorumlanabilir. Pozitif bir antijen sonucunda, mavi "Ag" çizgisi ve "C" bölümündeki kesik mavi kontrol çizgisi görüntülenir (Şekil 1a). Çizgiler yoğunluğa bağlı olarak açık veya koyu olarak görüntülenebilir. Net bir kısmı çizgi pozitif sonuç olarak yorumlanır. Membran renk değişimini pozitif sonuç olarak yorumlamayın. Pozitif sonuç, *C. difficile* bulunduğunu gösterir.
4. **Pozitif Antijen ve Toksin ("Tox") Sonucu:** Antijen sonucu pozitifse ("Ag" çizgisinde mavi bir çizgi, "C" bölümü altında da kesik mavi kontrol çizgisi görüldüğünde) toksin sonucu yorumu için ilerleyin. Pozitif bir toksin sonucu *Substrat* eklenmesinden 10 dakikalık test değerlendirme süresinin sonuna kadarki süreçte herhangi bir noktada yorumlanabilir. Pozitif bir toksin sonucunda, mavi bir "Tox" çizgisi görülür (Şekil 1b). Çizgi yoğunluğa bağlı olarak açık veya koyu olarak görüntülenebilir. Net bir kısmı çizgi pozitif sonuç olarak yorumlanır. Membran renk değişimini pozitif sonuç olarak yorumlamayın. Pozitif sonuç, *C. difficile* toksini bulunduğunu gösterir.
5. **Negatif Sonuç:** Test, *Substrat* eklenmesinden sonraki 10 dakika öncesinde negatif ya da geçersiz olarak yorumlanamaz. *Reaksiyon Bölmesinin* orta kısmında, "C" bölümünün altında tek bir kesik mavi çizgi göründüğünde ve *Reaksiyon Bölmesinin* "Ag" veya "Tox" kısmında test çizgisi görülmediğinde (Şekil 1c). Antijen kısmında negatif sonuç alınması *C. difficile* antijeninin bulunmadığını ya da test saptama seviyesinin altında olduğunu gösterir. Toksin kısmında negatif sonuç alınması C. difficile toksininin bulunmadığını ya da test saptama seviyesinin altında olduğunu gösterir.
6. **Geçersiz Sonuç:** Reaksiyon Bölmesinde görünür çizgi olmaması (Şekil 1d). Reaksiyon süresinin sonunda "C" bölümünün alt kısmında mavi kesik çizgi olmadığında, test sonucu geçersizdir (Şekil 1e, 1f, 1g).
7. **Negatif Antijen ("Ag"), Pozitif Toksin ("Tox"):** Çok az örnekte, antijen testi negatif çıkabilirken, toksin testi pozitif olabilir. Bu örnekler, belirsiz olarak değerlendirilmeli ve taze bir örnek kullanılarak test yinelenmelidir (Şekil 1h). Yeniden yapılan testte de antijen sonucu negatif, toksin sonucu pozitif olduğunda, bu durumu pozitif toksin sonucu olarak rapor edilmelidir.

<u>ŞEKİL 1</u>: *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® SONUÇLARIN YORUMLANMASI



Şekil 1a
Pozitif Antijen Sonucu

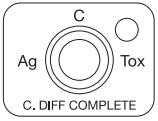


Şekil 1b
Pozitif Antijen
ve Toksin Sonucu

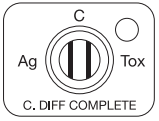


Şekil 1c
Negatif Sonuç

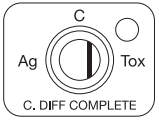
For Instructional Use Only



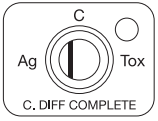
Şekil 1d
Geçersiz Sonuç



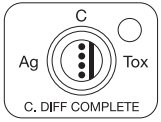
Şekil 1e
Geçersiz Sonuç



Şekil 1f
Geçersiz Sonuç



Şekil 1g
Sonuç



Şekil 1h
Yorum için bkz. #7

KALİTE KONTROLÜ

Dahili: Test edilen tüm *Membran Cihazlarında*, *Reaksiyon Bölmesinin* ortasında "C" kısmında kesik mavi bir çizgi görülmelidir. Mavi kontrol çizgileri, örnek ve ayıraçların doğru şekilde eklendiğini, ayıraçların test sırasında aktif olduğunu ve örneğin *Membran Cihazı* boyunca düzgün şekilde dağıldığını doğrular. Aynı zamanda, test ile ilişkili diğer ayıraçların reaktifliğini de doğrular. Sonuç alanının arka planının eşbiçimli olması, dahili negatif kontrol olarak görülür. Test doğru şekilde yapılmışsa ve ayıraçlar doğru şekilde çalışıyorsa, arka plan görülebilir bir sonuç verecek şekilde beyaz olacaktır.
Harici: *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® kitinin reaktifliği, teslimat sonrasında *Pozitif Kontrol* ve negatif kontrol (*Seyreltici*) kullanılarak doğrulanmalıdır. *Pozitif Kontrol* kit ile birlikte verilmektedir (gri kapaklı şişe). *Pozitif Kontrol* test ile ilişkili diğer ayıraçların reaktifliğini test eder ve analitik test geçirimi hassasiyetini sağlamak üzere tasarlanmamıştır. *Seyreltici* negatif kontrol için kullanılır. Yerel, devlet ve/veya federal yönetmelikleri ve/veya akreditasyon kurumlarının gerekliliklerini karşılamak için ilave testler yapılabilir.

SINIRLAMALAR

1. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testi, dışkı örneklerinde C. difficile antijen ve toksinlerinin saptanması için kullanılır. Test, dışkıdaki toksin varlığını doğrular ve bu bilgi, doktor tarafından hastanın klinik geçmişi ve fiziksel muayene sonuçlarının ışığında yorumlanmalıdır. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®testi, şu seviyelerde saptama yapacaktır: A toksini: ≥0,63 ng/mL, B toksini: ≥0,16 ng/mL, ve glutamat dehidrojenaz: ≥0,8 ng/mL.
2. Dışkı örnekleri son derece komplekstir. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinden en iyi sonuçları almak için en geç 24 saat içerisinde toplanmış örneklerin kullanılması gerekmektedir. Birçok seyreltilmemiş örnek, toksinde büyük oranda bozunma görünmeden 2°C ila 8°C arası sıcaklıkta 72 saat saklanabilir. Örnekler bu süre içerisinde test edilmediğinde, dondurulabilir ya da çözülebilir. Ancak, dondurma ve çözme işlemleri arka arkaya gerçekleştirildiğinde antijen ile A ve B toksinleri immünreaktivitesinde kayıp olabilir.
3. Bazı örnekler zayıf reaksiyon verebilir. Bu birkaç faktörden kaynaklanıyor olabilir; düşük antijen ve/veya toksin seviyeleri , bağlayıcı maddelerin bulunması veya dışkıda inaktive edici enzimler olması. Çizgiler yoğunluğa bağlı olarak açık veya koyu olarak görüntülenebilir. Kısmı bile olsa herhangi bir mavi çizgi gözlemlendiğinde, bu örnekler pozitif olarak rapor edilmelidir. Net bir kısmı mavi çizgi pozitif sonuç olarak yorumlanır.
4. %10 Formalin, mertiolat formalin, sodyum asetat formalin ya da polivinil alkolde saklanan dışkı örnekleri kullanılamaz.
5. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testi nitel bir testtir. Rengin yoğunluğu nicel olarak yorumlanmamalıdır.
6. İmmünolojik olarak ilgili toksinlerin üretimi nedeniyle *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinde *C. sordellii* reaktivitesi de görülebilir (1).
7. Bebeklerde %50'ye kadar kolonizasyon oranı rapor edilmiştir. Kistik fibroz hastalarında da yüksek bir oran rapor edilmiştir (1, 3). Bu gruplarda, sonuçlar pozitif görülebilir ancak testler kolonize taşıyıcı olma potansiyeli çerçevesinde değerlendirilmelidir.
8. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testi toksin bölümünde reaksiyon gösteren tek *C. difficile* dışı organizma *Clostridium sordellii* VPI 9048'dir. Bu tür, sırasıyla A ve B toksinleri ile homolog olan HT ve LT toksinlerini üretir.
9. Kolonik yıkama, baryum lavmanı, laksatifler ya da bağırsak preparatlarının *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testi performansına etkisi ile ilgili herhangi bir veri bulunmamaktadır. Bu prosedürler aşırı seyreltmeye ya da örnekte test performansını etkileyebilecek katkı maddelerinin bulunmasına neden olabilir.

BEKLENEN DEĞERLER

Clostridium difficile hastalığı, temel olarak yaşlı hastalarda görülen nosokomiyal bir hastalıktır ve bu hastalığın görülme sıklığı hasta nüfusu, kurum türü ve epidemiyoloji gibi faktörlere bağlıdır. Antibiyotik ilişkili diyareli olan hastalarda rapor edilmiş olan *C. difficile* hastalığı oranı %5 ile 20 arasındadır ve hastanelerde bu oranlardan daha düşük ya da yüksek oranlar görülebilir. Bazı sağlıklı yetişkinler ile büyük miktarda sağlıklı bebekte (%50'ye kadar) *C. difficile* toksini pozitif sonuç verebileceğinden, test sonuçlarının klinik semptomlar ile birlikte değerlendirilmesi önemlidir. Buna ek olarak, kistik fibroz hastalarında %22 ila %32 arası bir *C. difficile* taşıyıcı oranı olduğu rapor edilmiştir (1,3). Bu cihaz için gerçekleştirilen ve semptom gösteren hastalar üzerinde yürütülen çalışmalarda A ve B toksinlerine rastlanma oranı %12, GDH oranı ise %18'dir. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin antijen bölümünde alınan pozitif sonuç, dışkı örneğinde *C. difficile* bulunduğunu, negatif sonuç ise bu organizmanın bulunmadığını gösterir. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin toksin bölümünde alınan pozitif sonuç, dışkı örneğinde *C. difficile* bulunduğunu, negatif sonuç ise toksin bulunmadığını ya da toksin düzeyinin saptama için yetersiz olduğunu gösterir.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

***C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin antijen bölümünün klinik değerlendirmesi**
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® testinin antijen bölümünün bakteri kültürü ile karşılaştırılması. Değerlendirmeye dahil edilen örnekler, rutin test için klinik laboratuvara gönderilmiştir. Kurum içi prosedürlere uygun şekilde bakteri kültürü testi yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin bakteri kültürü ile karşılaştırmasına yönelik klinik performans özeti

n = 1126	Bakteri Kültürü Pozitif	Bakteri Kültürü Negatif
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antijen Çizgisi Pozitif	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antijen Çizgisi Negatif	21	842

For Instruction Use Only

		%95 Güvenilirlik Sınırı
Hassasiyet	90,5%	85,7 – 93,9
Özgüllük	93,1%	91,2 – 94,7
Pozitif Belirleyicilik Değeri	76,4%	70,7 – 81,3
Negatif Belirleyicilik Değeri	97,6%	96,2 – 98,4
Korelasyon	92,6%	91,8 – 93,4

Farklı örnekler güncel ELISA testleri kullanılarak *C. difficile* glutamat dehidrojenaz için değerlendirilmiştir.
62 yalancı pozitif örneğin yirmi dokuzu, başka bir GDH testinde de pozitif sonuç vermiş ve gerçek pozitif olarak değerlendirilmiştir.
21 yalancı negatif örneğin on üçü başka bir GDH testinde de negatif sonuç vermiş ve gerçek negatif olarak değerlendirilmiştir.

C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® testinin antijen bölümü, C. difficile toksini saptaması için doku kültürü testi ile karşılaştırılmıştır. Değerlendirmeye dahil edilen örnekler, rutin test için klinik laboratuvara gönderilmiştir. Sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin antijen bölümünde doku kültürü-pozitif örneklerinin %98,7'si algılanmıştır.

Tablo 2. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin doku kültürü testi ile karşılaştırmasına yönelik klinik performans özeti

n = 1126	Doku Kültürü Pozitif	Doku Kültürü Negatif
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antijen Çizgisi Pozitif	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antijen Çizgisi Negatif	2	861

***C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin toksin bölümünün klinik değerlendirmesi**
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® testinin toksin bölümü iki klinik laboratuvarda ve TECHLAB, Inc'de kurum içinde doku kültürü testi ile karşılaştırılmıştır. Bu değerlendirmeye dahil edilen örnekler, rutin testler için klinik laboratuvarlara gönderilmiştir. Sonuçlar Tablo 3'de gösterilmektedir.

Tablo 3. *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin doku kültürü testi ile karşılaştırmasına yönelik klinik performans özeti

n = 1126	Doku Kültürü Pozitif	Doku Kültürü Negatif
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksin Çizgisi Pozitif	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksin Çizgisi Negatif	19	964

		%95 Güvenilirlik Sınırı
Hassasiyet	87,8%	81,4 - 92,3
Özgüllük	99,4%	98,6 - 99,7
Pozitif Belirleyicilik Değeri	95,8%	90,7 - 98,3
Negatif Belirleyicilik Değeri	98,1%	96,9 - 98,8
Korelasyon	97,8%	97,6 - 98,0

Farklı örnekler güncel ELISA testleri kullanılarak A ve B toksinleri için test edilmiştir.
6 adet yalancı pozitif örnekten beşi ELISA ile pozitif sonuç vermiş ve gerçek pozitif olarak değerlendirilmiştir.
19 yalancı negatif örneğin on ikisi ELISA testinde de negatif sonuç vermiş ve gerçek negatif olarak değerlendirilmiştir.

DIŞKI ÖRNEĞİ KIVAMININ ETKİSİ

Dışkı örneği kıvamının *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® üzerindeki etkisi
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® testinin antijen bölümünde (n=978) ve toksin bölümünde (n=981) farklı kıvamlardaki dışkı örneklerinin reaksiyonları Tablo 4 ve 5'te verilmiştir. Kültür testi ya da *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testi kullanılarak elde edilen pozitif reaksiyon yüzdeleri üç tür dışkı örneğinde de (sıvı, yarı katı ve katı) benzerdir. Tüm örnekler C. difficile testi için gönderilmiştir. Gönderi sırasında örnek kıvamı değil, hasta geçmişi temel alınmıştır. Antijen bölümünde, sonuçlar, farklı kıvamlarda örnekler test edilirken *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin bakteri kültüründe de benzer şekilde performans gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Toksin bölümünde, sonuçlar, farklı kıvamlarda örnekler test edilirken *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin doku kültürü testinde de benzer şekilde performans gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.

For Instructional Use Only

Tablo 4. ***C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin antijen bölümünde farklı kıvamda dışkı örneklerinin reaksiyonu**

Örnek sayısı (n = 978)	Sıvı Örnekler (n = 335)	Yarı-katı Örnekler (n = 522)	Katı Örnekler (n = 121)
Bakteri kültürü testinde pozitif	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antijen Çizgisi Pozitif	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Bakteri kültürü testinde negatif	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Antijen Çizgisi Negatif	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tablo 5. ***C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin toksin bölümünde farklı kıvamda dışkı örneklerinin reaksiyonu**

Örnek sayısı (n = 981)	Sıvı Örnekler (n = 336)	Yarı-katı Örnekler (n = 523)	Katı Örnekler (n = 122)
Doku kültürü testinde pozitif	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksin Çizgisi Pozitif	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Doku kültürü testinde negatif	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Toksin Çizgisi Negatif	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

ANALİTİK HASSASİYET

Test geçirimi A toksini için 0,63 ng/mL, B toksini için 0,16 ng/mL ve glutamat dehidrojenaz için 0,8 ng/mL konsantrasyonda olacak şekilde belirlenmiştir.

TEKRARLANABİLİRLİK

C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® testinin tekrarlanabilirliği, test sırasında tanımlanmamak üzere kodlanmış 12 adet dışkı örneği kullanımını içermektedir. Test, örnekleri 3 gün boyunca test eden 3 adet bağımsız laboratuvarda gerçekleştirilmiştir. Örnekler, %100 oranda beklenen sonuçları vermiştir.

ÇAPRAZ REAKSİYON

Nihai konsantrasyon olarak yaklaşık 10^8 ya da daha yüksek değerde bulunmak şartıyla, aşağıdaki organizasyonlarla aşılanmış olan dışkı örnekleri, *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinin antijen ya da toksin bölümünde reaksiyona girmemiştir:

Bakteri veya Patojen: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (toksijen olmayan), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® testi toksin bölümünde reaksiyon gösteren tek *C. difficile* dışı organizma *Clostridium sordellii* VPI 9048'dir. Bu tür, sırasıyla A ve B toksinleri ile homolog olan HT ve LT toksinlerini üretir.
0,2 mL'de $10^{3.3}$ ila $10^{8.25}$ TCID biriminde görülme şartıyla, aşağıdaki virüsler *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testinde reaksiyona girmemiştir:
Virüsler: Adenovirüs türleri 1, 2, 3, 5, 40, 41, İnsan koronavirüsü, Koksakivirüs B2, B3, B4, B5, Ekovirüs 9, 11, 18, 22, 33, Enterovirüs türleri 68, 69, 70, 71, Rotavirüs.

ETKİLEŞEN MADDELER

Dışkıda aşağıda belirtilen konsantrasyonlarda bulunduğunda, test sonuçları üzerinde etkisi olmayan maddeler (A.B.D. formülasyonu) aşağıda verilmiştir: musin (%3,5 w/v), insan kanı (%40 v/v), baryum sülfat (%5 w/v), Imodium® (%5 v/v), Kaopectate® (%5 v/v), Pepto-Bismol® (%5 v/v), sterik/palmitik asit (%40 w/v), Metronidazol (%0,25 w/v), Vankomisin (%0,25 w/v).

SİKLOSERİN-SEFOKSİTİN-FRUKTOZ AGAR (CCFA) İLE ELDE EDİLEN KLİNİK İZOLATLARIN REAKSİYONU

37°C sıcaklıkta CCFA üzerinde anaerobik bakteri kültürü testi yapılmasından 3 gün sonra elde edilen toplam 103 *C. difficile* klinik izolatı *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® testi ile test edilmiştir. Analiz için, dışkı örnekleri için önerilen şekilde bağımsız koloniler seçilmiş ve *Seyrelticide* bekletilmiştir. 103 izolatın tümü teste pozitif antijeni reaksiyonu vermiştir.
103 izolatın yetmişi (%68) doku kültürü testinde *C. difficile* toksini için pozitif sonuç veren dışkı örneklerine aittir. Bunların 56 tanesi (%80) 3 gün boyunca 37°C'de CCFA üzerinde gerçekleşen anaerobik büyüme sonrasında değerlendirildiğinde pozitif toksin reaksiyonu vermiştir.

For Instructional Use Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

НАЗНАЧЕНИЕ

Анализ TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* – это мембранный иммуноферментный экспресс-анализ, предназначенный для одновременного обнаружения антигенов глутаматдегидрогеназы и токсинов A и B *Clostridium difficile* в одной реакционной лунке. Анализ позволяет обнаружить антиген *C. difficile* – глутаматдегидрогеназу, что дает возможность подтвердить присутствие бактерий *C. difficile*. Кроме того, анализ позволяет подтвердить наличие токсикогенных бактерий *C. difficile*, выявляя токсины A и B в пробах фекалий, взятых у людей, которые, возможно, имеют заболевания, вызванные *C. difficile*. Анализ должен использоваться как вспомогательное средство при диагностике заболеваний, вызванных *C. difficile*. Как и для других анализов *C. difficile*, результаты анализа должны интерпретироваться с учетом истории болезни пациента.

ОПИСАНИЕ

После лечебного курса с использованием антибиотиков у многих пациентов возникают проблемы с желудочно-кишечным трактом: это может быть как непродолжительная диарея, так и тяжелые формы псевдомембранозного колита. Многие случаи легких форм заболеваний желудочно-кишечного тракта и большинство случаев псевдомембранозного колита вызываются токсикогенными штаммами *Clostridium difficile* (1). Этот организм является оппортунистической анаэробной бактерией, которая размножается в кишечнике, если нормальная флора изменяется под влиянием антибиотика. Токсикогенные штаммы *C. difficile* имеют гены, которые обусловливают выработку токсинов, в то время как нетоксикогенные штаммы не имеют таких генов. Начало заболевания связано с токсинами, которые вырабатываются токсикогенным организмом. Считается, что клинические симптомы данного заболевания прежде всего вызываются токсином A – энтеротоксином, который повреждает ткани (2,3). Бактерии *C. difficile* также вырабатывают второй вид токсина – токсин B. Токсин B, который называют цитотоксином организма, – это токсин, который обнаруживается с помощью анализа тканевой культуры, используемого во многих лабораториях. Токсикогенные штаммы *C. difficile* могут вырабатывать оба токсина или только токсин B (4–7). Глутаматдегидрогеназа *C. difficile* – это качественный антиген-маркер для организма в фекалиях, так как он вырабатывается в больших количествах всеми штаммами: как токсикогенными, так нетоксикогенными (8–10). Антиген можно обнаружить в пробах фекалий с помощью анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Положительный результат анализа на наличие глутаматдегидрогеназы *C. difficile* подтверждает присутствие этого организма в пробе фекалий; отрицательный результат указывает на отсутствие этого организма. Положительный результат теста на наличие токсинов A и B подтверждает присутствие токсикогенных штаммов *C. difficile*.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ АНАЛИЗА

В анализе *C. DIFF QUIK CHECK COMPLETE®* используются антитела, специфичные для глутаматдегидрогеназы и токсинов A и B штаммов *C. difficile*. Устройство включает окно реакции с тремя линиями неподвижных антител. Тестовая линия антигена («Ag») содержит антитела к глутаматдегидрогеназе *C. difficile*. Контрольная линия («C») – это пунктирная линия, которая содержит антитела пероксидазы хрена (HRP). Тестовая линия токсинов A и B («Tox») содержит антитела к токсинам A и B *C. difficile*. *Конъюгат* содержит антитела к глутаматдегидрогеназе и антитела к токсинам A и B, которые соединены с молекулами пероксидазы хрена. Для проведения анализа проба добавляется в пробирку, содержащую смесь *растворителя* и *конъюгата*. Растворенная смесь пробы и конъюгата добавляется в *лунку для пробы*, после чего устройство необходимо оставить на 15 минут, чтобы произошла инкубация при комнатной температуре. В ходе инкубации молекулы глутаматдегидрогеназы и токсинов A и B в пробе связываются с конъюгатами антител и пероксидазы. Комплексы антиген-антитело-конъюгат проникают через фильтровальную ткань и попадают на мембрану, где они захватываются неподвижными антителами в линиях, специфичными к глутаматдегидрогеназе и токсинам A и B. Затем *окно реакции* промывается с использованием *буферного раствора для промывания*, после чего добавляется *субстрат*. После 10-минутного инкубационного периода реакция «Ag» проверяется визуально: на стороне «Ag» *окна реакции* должна появиться вертикальная голубая линия. Появление голубой линии указывает на положительный результат анализа. Если результат анализа «Ag» положительный, необходимо визуально проверить реакцию «Tox»: на стороне «Tox» *окна реакции* должна появиться голубая линия. Появление голубой линии указывает на положительный результат анализа. Положительная реакция «C», на которую указывает вертикальная голубая линия в области «C» *окна реакции* подтверждает, что анализ выполнен правильно и результаты являются достоверными.

ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

MEM | DEV — ***Мембранные устройства*** – каждая упаковка содержит 1 устройство

DIL | SPE — ***Растворитель* (флакон, 22 мл)** – буферный белковый раствор с градуированной пипеткой (содержит 0,05 % ProClin® 300)* ⚠

WASH | REAG — ***Буферный раствор для промывания* (флакон, 12 мл)** – буферный раствор с градуированной пипеткой (содержит 0,05 % ProClin® 300)* ⚠

SUBS | REAG — ***Субстрат* (флакон, 3,5 мл)** – раствор тетраметилбензидина

CONJ | ENZ — ***Конъюгат* (флакон, 2,5 мл)** – антитела к глутаматдегидрогеназе, соединенные с молекулами пероксидазы хрена, и антитела к токсинам A и B, соединенные с молекулами пероксидазы хрена, в буферном белковом растворе (содержит 0,05 % ProClin® 300)* ⚠

CONTROL | + — ***Положительный контрольный образец* (2 мл)** – антиген в буферном белковом растворе

Одноразовые пластиковые пипетки – с градуированной шкалой 25 мкл, 100 мкл, 200 мкл, 300 мкл, 400 мкл и 500 мкл

IVD — Для диагностики *in vitro*

*Сигнальное слово: Предупреждение
H317: Может вызывать аллергическую кожную реакцию
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Тестовые пробирки небольшого размера (например, пластиковые пробирки для микроцентрифуги или стеклянные пробирки)
Палочки-тампоны — *Таймер* — *Вихревый смеситель*
Одноразовые перчатки для работы с пробами фекалий — *Пипеттор и насадки*

СРОКИ И УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Срок годности набора указан на наклейке. Сроки годности каждого компонента указаны на отдельных наклейках. Набор должен храниться при температуре 2–8 °C.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*. Только для профессионального использования.
2. Не следует смешивать реагенты из различных наборов или брать реагенты из различных наборов. Не используйте набор, если его срок годности истек.
3. Осмотрите каждый компонент набора на наличие утечек. После получения осмотрите набор, чтобы убедиться, что компоненты не замерзли и не являются теплыми на ощупь из-за неправильных условий транспортировки.
4. Все компоненты должны иметь КОМНАТНУЮ ТЕМПЕРАТУРУ ПЕРЕД ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ!
5. Крышки, насадки и пипетки помечаются различными цветами; НЕ путайте их и НЕ меняйте их!
6. Не замораживайте реагенты. Набор должен храниться при температуре 2–8 °C.

RU

For professional use only

7. Упаковка с *мембранным устройством* должна иметь комнатную температуру, прежде чем ее можно будет открыть. Мембранные устройства должны быть сухими перед использованием.
8. Пробы фекалий должны использоваться в течение 72 часов после забора пробы, чтобы обеспечить оптимальные результаты. Замерзшие пробы могут утратить активность из-за замерзания и последующего размораживания. В случае использования замороженных образцов дождитесь, пока они нагреются до комнатной температуры.
9. Держите флакон с реагентом вертикально, чтобы обеспечить одинаковый размер капель и набрать необходимый объем реагента.
10. Пробы и мембранные устройства должны обрабатываться и утилизироваться после использования как источники потенциальной биологической опасности.
11. Запрещается повторно использовать мембранные устройства.
12. Данный анализ был оптимизирован с точки зрения чувствительности и специфичности. Отклонения от указанной процедуры и/или условий проведения анализа могут повлиять на чувствительность и специфичность анализа. Не отклоняйтесь от указанной процедуры.
13. Если анализируется несколько проб фекалий, контролируйте общее время анализа. Сначала добавьте *растворитель*, затем добавьте *конъюгат* в каждую пробирку с *растворителем*. Затем добавьте пробу в пробирку с *растворителем* и *конъюгатом*. Тщательно перемешайте все растворенные пробы и поместите их в *мембранное устройство*. 15-минутный инкубационный период начинается после того, как последняя смесь с раствором пробы и конъюгата помещена в *мембранное устройство*.
14. Если цвет реагента *субстрата* меняется на синий или фиолетовый, свяжитесь со службой технической поддержки, чтобы произвести замену.
15. Пробы фекалий могут содержать потенциально инфекционные агенты, и манипуляции с ними должны производиться в соответствии с требованиями «Уровня биологической опасности 2», как рекомендовано в Руководстве CDC/NIH «Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях».
16. При выполнении анализа необходимо надевать одноразовые перчатки.
17. Реагенты *Конъюгат*, *Растворитель* и *Буферный раство*р для промывания содержат 0,05 % ProClin® 300 в качестве консерванта. Хотя его концентрация мала, ProClin® 300 является известным вредным веществом (может раздражать кожу). В случае повышения чувствительности/появления на коже раздражения или сыпи обратитесь к медицинскому специалисту. Снимите загрязненную одежду и постирайте ее, прежде чем одевать снова. Работа с реагентами должна проводиться в соответствии с действующими требованиями техники безопасности в лаборатории и надлежащими лабораторными практиками. Паспорта безопасности для данного продукта предоставляются по запросу, обратитесь в службу технической поддержки..
18. Следуйте правилам утилизации отходов, которые действуют в вашей стране, регионе и местности.

ЗАБОР ПРОБ ФЕКАЛИЙ, ОБРАЩЕНИЕ С НИМИ И ХРАНЕНИЕ

Приемлемые типы проб	Запрещено использовать
Свежие пробы фекалий	Пробы фекалий, выдержанные в формалиновом фиксаторе (например, формалин с ацетатом натрия, раствор формалина 10 %, формалин с мертиолятом)
Замороженные пробы фекалий	Пробы фекалий, выдержанные в спиртовом фиксаторе (например, поливиниловый спирт)
Пробы в транспортной среде (Cary Blair, C&S)	

Хранение проб Температура	Допустимый срок хранения	Комментарии
2–8 °C	72 часа	Идеальные пробы должны быть взяты не более чем за 24 часа до анализа
Замороженные ≤ –10 °C	Более чем 72 часа	Дождитесь, пока проба нагреется до комнатной температуры. Многократное замораживание и размораживание может привести к утрате активности пробы из-за разрушения токсинов.

1. Допускается использовать стандартные процедуры забора пробы и методы обращения, которые используются в лаборатории для работы с пробами фекалий.
2. Пробы фекалий должны храниться в чистых и герметичных контейнерах.
3. НЕ РЕКОМЕНДУЕТСЯ хранить пробы фекалий в *растворителе*.
4. Не допускайте, чтобы пробы фекалий находились в смеси *растворителя и конъюгата* в течение более чем 24 часов.

ПОДГОТОВКА ПРОБЫ

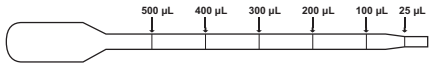
1. Дождитесь, пока все реагенты и необходимое количество устройств нагреются до комнатной температуры, прежде чем их использовать. Рекомендуется извлечь реагенты из пенопластового вкладыша, чтобы они могли быстрее нагреться до комнатной температуры.
2. Подготовьте и промаркируйте по одной небольшой тестовой пробирке для каждой пробы и для дополнительных внешних контрольных образцов, если необходимо.
3. Используя черную градуированную пипетку, добавьте 750 мкл (2-е деление от кончика) *растворителя* в каждую пробирку для проб фекалий. **Для проб в транспортных средах, таких как Cary Blair или C&S, добавьте 650 мкл (1-я градуированная полоска от кончика) *растворителя* в пробирку.**

Тип пробы	Объем *растворителя*
Свежие пробы фекалий	750 мкл (2-е деление от кончика)
Замороженные пробы фекалий (замороженные, без растворителя)	750 мкл (2-е деление от кончика)
Пробы в транспортной среде (Cary Blair, C&S)	650 мкл (1-я градуированная полоска от кончика)
Внешние контрольные пробы (положительная и отрицательная)	750 мкл (2-е деление от кончика)



4. Добавьте по одной капле *конъюгата* (флакон с красной крышкой) в каждую пробирку.
5. Используйте одну одноразовую пластиковую пипетку (входит в комплект поставки) для каждой пробы. Каждая пипетка имеет градуировку с делениями 25 мкл, 100 мкл, 200 мкл, 300 мкл, 400 мкл и 500 мкл.

Градуированная пипетка:



6. **Тщательно перемешайте все пробы независимо от консистенции. Важно, чтобы проба образовала однородную суспензию, прежде чем переносить ее.**
Жидкие/полужидкие пробы – наберите 25 мкл пробы в пипетку и поместите пробу в смесь *растворителя и конъюгата*. Используя ту же пипетку, перемешайте растворенную пробу.

For Instructional Use Only

Затвердевшие/плотные пробы – необходимо добавить правильное количество затвердевших фекалий в смесь с пробой. Тщательно перемешайте пробу, используя деревянную палочку-тампон, и переместите небольшую часть (диаметром приблизительно 2 мм, эквивалент 25 мкл) пробы в смесь растворителя и конъюгата. Измельчите пробу с помощью палочки-тампона.

Пробы фекалий в транспортной среде Cary Blair или C&S – добавьте 100 мкл (2-я градуированная полоска от кончика) пробы в смесь *растворителя и конъюгата*.

7. **Дополнительные пробы для внешнего контроля:**

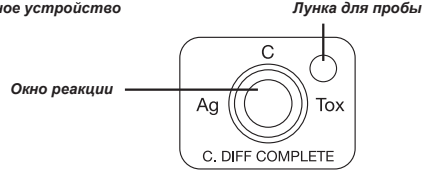
Положительный контрольный образец для внешнего контроля – добавьте одну каплю *положительного контрольного образца* (флакон с серой крышкой) в смесь *растворителя и конъюгата*.

Отрицательный контрольный образец для внешнего контроля – добавьте 25 мкл *растворителя* в смесь *растворителя и конъюгата*.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если добавлено слишком маленькое количество пробы или не удалось размешать и добиться однородной суспензии пробы в смеси растворителя и конъюгата, это может привести к неверному отрицательному результату анализа. Если добавлено слишком большое количество пробы фекалий, могут быть получены неправильные результаты из-за ограниченного тока пробы.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Подготовьте одно *мембранное устройство* на пробу и одно устройство на каждый дополнительный положительный или отрицательный образец для внешнего контроля, если необходимо. Упаковка из фольги, в которой находятся устройства, должна нагреться до комнатной температуры, прежде чем можно будет ее использовать. Используйте устройство сразу же после раскрытия упаковки. Промаркируйте каждое устройство соответствующим образом и расположите его на плоской поверхности таким образом, чтобы надпись «C. DIFF COMPLETE» находилась внизу устройства, а небольшая лунка для пробы – в верхнем правом углу устройства.



2. Закройте каждую пробирку с растворенной пробой и тщательно перемешайте содержимое. Для этого достаточно несколько раз перевернуть пробирку или сделать ею несколько круговых движений. После того как проба пациента или *положительный контрольный образец* растворились в смеси *растворителя и конъюгата*, необходимо оставить ее на некоторое время (до 24 часов) для инкубации при комнатной температуре, прежде чем добавлять в *мембранное устройство*.
3. Используя новую пипетку, перенесите 500 мкл растворенной смеси пробы и конъюгата в ***лунку для пробы*** (углубление меньшего размера в верхнем правом углу устройства) *мембранного устройства*: жидкая проба должна попасть на капиллярную прокладку в *мембранном устройстве*. При добавлении пробы в лунку убедитесь, что кончик пипетки наклонен в направлении *окна реакции* (более крупное углубление в центре устройства).
4. Обеспечьте инкубацию в устройстве при комнатной температуре по крайней мере в течение 15 минут: проба за счет капиллярного эффекта проникнет через устройство, и влажный участок достигнет *окна реакции*.

УБЕДИТЕСЬ, ЧТО ВПИТЫВАНИЕ ПРОБЫ ПРОИЗОШЛО:

Иногда растворенная проба не впитывается надлежащим образом, и окно реакции не увлажняется полностью. Если окно реакции не увлажняется полностью в течение 5 минут после добавления пробы в лунку, добавьте 100 мкл (4 капли) растворителя в лунку для пробы и подождите еще 5 минут (всего 20 минут).

5. После инкубации добавьте 300 мкл *буферного раствора для промывания* в ***окно реакции***, используя градуированную пипетку с белым колпачком. *Буферный раствор для промывания* должен пройти через мембрану окна реакции и полностью впитаться.
6. Добавьте 2 капли *субстрата* (флакон с белым колпачком) в ***окно реакции***. Осмотрите окно и запишите результаты визуального осмотра через 10 минут.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Интерпретация анализа наиболее достоверна, когда показания устройства прочитываются сразу же после завершения 10-минутного периода реакции. Осмотрите устройство на стандартном рабочем расстоянии в хорошо освещенном помещении. Необходимо смотреть на устройство сверху.
2. Убедитесь, что на устройстве по центру *окна реакции* отображаются голубые точки, которые указывают на результат внутреннего положительного контрольного образца. Появление контрольных точек показывает, что внутренний контроль был выполнен надлежащим образом. Фон может иметь белый цвет или слегка голубоватый. Осмотрите устройство на наличие голубых линий на участках «Ag» и «Tox» в *окне реакции*, где находятся тестовые линии. Линии могут иметь различную интенсивность окраски: от легкого оттенка до темного цвета.
3. **Положительный результат антигена («Ag»):** Положительный результат антигена может быть определен в любой момент времени между добавлением *субстрата* и временем считывания результатов (10 минут). При положительном результате антигена отображается голубая линия «Ag» и голубая пунктирная контрольная линия под надписью «C» (Рис. 1а). Линии могут иметь различную интенсивность окраски: от легкого оттенка до темного цвета. Явная частичная линия интерпретируется как положительный результат. Не следует интерпретировать изменение цвета мембраны как положительный результат. Положительный результат указывает на присутствие штаммов *C. difficile*.
4. **Положительный результат антигена и токсина («Tox»):** Если результат антигена положительный (т. е. отображается голубая линия «Ag» и голубая пунктирная контрольная линия «C»), необходимо проверить результат контроля на наличие токсина. Положительный результат токсина может быть определен в любой момент времени между добавлением *субстрата* и временем считывания результатов (10 минут). При положительном результате токсина отображается голубая линия «Tox» (Рис. 1б). Линия может иметь различную интенсивность окраски: от легкого оттенка до темного цвета. Явная частичная линия интерпретируется как положительный результат. Не следует интерпретировать изменение цвета мембраны как положительный результат. Положительный результат указывает на присутствие токсина *C. difficile*.
5. **Отрицательный результат:** Тест не может интерпретироваться как отрицательный или недействительный, пока не прошло 10 минут после добавления *субстрата*. Единственная голубая пунктирная линия отображается в середине *окна реакции* под надписью «C», при этом тестовые линии на участках «Ag» или «Tox» в *окне реакции* отсутствуют (Рис. 1в). Отрицательный результат в области антигена показывает, что антиген *C. difficile* отсутствует в пробе или его содержание не превышает предел детектирования анализа. Отрицательный результат в области токсина показывает, что токсин C. difficile отсутствует в пробе или его содержание не превышает предел детектирования анализа.
6. **Недействительный результат:** Линии не отображаются в окне реакции (Рис. 1г). Результат анализа является недопустимым, если после завершения периода реакции под надписью «C» не отображается голубая пунктирная линия (Рис. 1д, 1е, 1ж).
7. **Отрицательный результат антигена («Ag»), положительный результат токсина («Tox»):** Незначительная доля проб при анализе может давать отрицательный результат для антигена и положительный для токсина. Такие пробы должны считаться неопределенными, и необходимо повторно провести анализ, используя свежую пробу (Рис. 1з). Если при повторном анализе будет получен отрицательный результат для антигена и положительный для токсина, необходимо зарегистрировать результат как положительный результат для токсина.

For instructional use only

RU

РИС. 1: ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

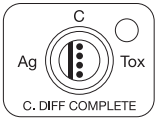


Рис. 1а
Положительный результат антигена

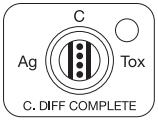


Рис. 1б
Положительный результат антигена и токсина

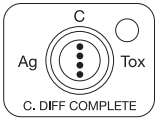


Рис. 1в
Отрицательный результат

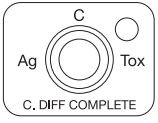


Рис. 1г
Недействительный результат

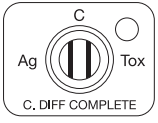


Рис. 1д
Недействительный результат

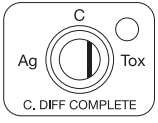


Рис. 1е
Недействительный результат

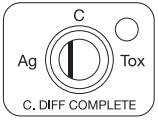


Рис. 1ж
Недействительный результат

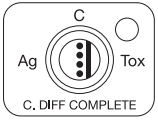


Рис. 1з
См. пункт №7 для интерпретации

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Внутренний: Голубая пунктирная линия должна отображаться по центру *окна реакции* под надписью «C» на каждом тестируемом *мембранном устройстве*. Появление голубой контрольной пунктирной линии подтверждает, что проба и реагенты были добавлены правильно, что реагенты были активными на момент выполнения анализа и что проба надлежащим образом попала на *мембранное устройство*. Это также подтверждает реактивность других реагентов, связанных с анализом. Однородный фон в области результата должен рассматриваться как отрицательный результат внутреннего контроля. Если анализ был выполнен правильно и реагенты прореагировали надлежащим образом, фон должен быть белым, чтобы обеспечить четкое отображение результатов.

Внешний: Реактивность набора *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* должна проверяться после получения с использованием *положительного контрольного образца* и отрицательного контрольного образца (*растворитель*). *Положительный контрольный образец* входит в комплект поставки набора (флакон с серой крышкой). *Положительный контрольный образец* подтверждает реактивность других реагентов, связанных с анализом, но не обеспечивает точность результатов анализа. *Растворитель* используется как отрицательный контрольный образец. Можно выполнить дополнительные тесты, используя контрольные образцы, которые соответствуют требованиям местных, областных и/или федеральных норм и требованиям аккредитующих организаций.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Анализ *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* используется для распознавания антигена и токсинов C. difficile в пробах фекалий. Анализ позволяет подтвердить наличие токсина в фекалиях, и эта информация должна учитываться лечащим врачом наряду с историей болезни и результатами физического осмотра пациента. Анализ *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* позволяет распознать токсин A при концентрации ≥ 0,63 нг/мл, токсин B – при концентрации ≥ 0,16 нг/мл и глутаматдегидрогеназу – при концентрации ≥ 0,8 нг/мл.
2. Пробы фекалий имеют очень сложную структуру. Оптимальные результаты анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* можно получить для проб, которые были взяты не более чем за 24 часа до анализа. Большинство нерастворенных проб можно хранить при температуре 2–8 °C в течение 72 часов, после чего начинается значительное разрушение токсина. Если пробы не были проанализированы в течение этого периода, их можно заморозить и затем разморозить перед анализом. Однако повторное замораживание и размораживание может привести к утрате иммунореактивности антигена и токсинов A и B.
3. Для некоторых проб наблюдаются слабые реакции. Это может быть вызвано различными факторами, такими как низкая концентрация антигена и/или токсина, присутствие связующих веществ или наличие инактивирующих ферментов в фекалиях. Линии могут иметь различную интенсивность окраски: от легкого оттенка до темного цвета. Эти пробы должны регистрироваться как положительные, если отображается любая, даже частичная, линия голубого цвета. Явная частичная линия голубого цвета интерпретируется как положительный результат.
4. Не разрешается использовать пробы фекалий, которые хранились в 10-процентном растворе формалина, в формалине с мертиолятом, в формалине с ацетатом натрия или в поливиниловом спирте.
5. Анализ *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* является качественным. Интенсивность окраски не должна интерпретироваться количественно.
6. Некоторые штаммы *C. sordellii* могут реагировать во время анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* в связи с тем, что они вырабатывают иммунологически связанные токсины (1).
7. Для младенцев может регистрироваться уровень колонизации микрофлоры кишечника до 50 %. Высокий уровень также может регистрироваться для пациентов с муковисцидозом (1,3). В этих группах результаты могут быть положительными, однако они должны рассматриваться с учетом возможности быть носителем колоний этих бактерий.
8. Единственный организм, который не относится к *C. difficile* и дает реакцию в области анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*, – это штамм *Clostridium sordellii* VPI 9048. Этот штамм вырабатывает токсины HT и LT, которые являются гомологичными для токсинов A и B соответственно.
9. Отсутствуют данные, которые говорят о влиянии промывания толстой кишки, бариевой клизмы, слабительных или подготовки кишечника на результаты анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Все эти процедуры могут привести к значительному разжижению фекалий или могут вызвать присутствие добавок, которые могут повлиять на результаты анализа.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Заболевания *Clostridium difficile* – это в основном нозокомиальные заболевания пациентов престарелого возраста, и частота этих заболеваний зависит от различных факторов, например от количества пациентов, типа учреждения и эпидемиологической обстановки. Зарегистрированная частота заболеваний *C. difficile* у пациентов с диареей после приема антибиотиков может составлять от 5 % до 20 %, и в больницах может фиксироваться уровень заболеваемости ниже или выше этого диапазона. Важно рассматривать результаты анализа с учетом клинических симптомов, так как пробы фекалий некоторых здоровых взрослых и большого количества здоровых младенцев (до 50 %) дают положительный результат при анализе на наличие токсина *C. difficile*. Кроме того, уровень носительства *C. difficile* в диапазоне от 22 % до 32 % был отмечен для пациентов с муковисцидозом (1,3). В исследованиях, которые проводились для этого устройства с участием пациентов с симптомами, уровень присутствия токсинов A и B составил 12 %, а значение глутаматдегидрогеназы (GDH) – 18 %. Положительный результат в области антигена при анализе *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* подтверждает присутствие штаммов *C. difficile* в пробе фекалий; отрицательный результат указывает на отсутствие этих организмов. Положительный результат в области токсина при

For Instructional Use Only

анализе *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® подтверждает присутствие токсина *C. difficile* в пробе фекалий; отрицательный результат указывает на отсутствие токсина или недостаточно высокую концентрацию токсина для обнаружения.

ХАРАКТЕРИСТИКИ РАБОТЫ

Клиническая оценка обнаружения антигена с помощью анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®
Участок антигена анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® сравнивался с бактериальной культурой. Пробы, которые участвовали в оценке, были отправлены в клинические лаборатории для проведения стандартных анализов. Анализ бактериальной культуры был выполнен в соответствии с внутренними процедурами. Результаты показаны в Таблице 1.

Таблица 1. Обзор клинической производительности: сравнение анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® с бактериальной культурой

n = 1126	Бактериальная культура Положительный	Бактериальная культура Отрицательный
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия антигена – положительный	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия антигена – отрицательный	21	842

		Предел достоверности 95 %
Чувствительность	90,5%	85,7 – 93,9
Специфичность	93,1%	91,2 – 94,7
Прогнозируемое положительное значение	76,4%	70,7 – 81,3
Прогнозируемое отрицательное значение	97,6%	96,2 – 98,4
Корреляция	92,6%	91,8 – 93,4

Противоречивые пробы оценивались с использованием текущих анализов ELISA на наличие глутаматдегидрогеназы *C. difficile*.
29 из 62 ложно положительных проб показали положительный результат при использовании другого анализа GDH, поэтому они рассматривались как истинно положительные.
13 и 21 ложно отрицательной пробы показали отрицательный результат при использовании другого анализа на наличие глутаматдегидрогеназы (GDH), поэтому они рассматривались как истинно отрицательные.

Участок антигена анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® сравнивался с анализом тканевой культуры с целью обнаружения токсина C. difficile. Пробы, которые участвовали в оценке, были отправлены в клинические лаборатории для проведения стандартных анализов. Результаты показаны в Таблице 2. Участок антигена анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® обнаружил антиген в 98,7 % образцах тканевых культур с положительным результатом.

Таблица 2. Обзор клинической производительности: сравнение анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® с анализом тканевой культуры

n = 1126	Тканевая культура Положительный	Тканевая культура Отрицательный
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия антигена – положительный	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия антигена – отрицательный	2	861

Клиническая оценка обнаружения токсина с помощью анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®
Участок токсина анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® сравнивался с анализом тканевой культуры в двух клинических лабораториях и в собственной лаборатории TECHLAB, Inc. Пробы, которые участвовали в оценке, были отправлены в клинические лаборатории для проведения стандартных анализов. Результаты показаны в Таблице 3.

Таблица 3. Обзор клинической производительности: сравнение анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® с анализом тканевой культуры

n = 1126	Тканевая культура Положительный	Тканевая культура Отрицательный
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия токсина – положительный	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия токсина – отрицательный	19	964

		Предел достоверности 95 %
Чувствительность	87,8%	81,4 - 92,3
Специфичность	99,4%	98,6 - 99,7
Прогнозируемое положительное значение	95,8%	90,7 - 98,3
Прогнозируемое отрицательное значение	98,1%	96,9 - 98,8
Корреляция	97,8%	97,6 - 98,0

Противоречивые пробы оценивались с использованием текущих анализов ELISA на наличие токсинов A и B.
5 из 6 ложно положительных проб дали положительный результат при анализе ELISA, поэтому они рассматривались как истинно положительные.
12 и 19 ложно отрицательных проб показали отрицательный результат при анализе ELISA, поэтому они рассматривались как истинно отрицательные.

For Instructional Use Only

ВЛИЯНИЕ КОНСИСТЕНЦИИ ПРОБЫ ФЕКАЛИЙ

Влияние консистенции пробы фекалий на результаты анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Реакция проб фекалий различной консистенции на участке антигена (n=978) и на участке токсина (n=981) анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* описана в Таблицах 4 и 5. Процентные доли положительных реакций с использованием анализа культуры или анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* были сходными для всех трех типов проб фекалий (жидкая, вязкая, твердая). Все пробы прошли анализ на наличие штаммов C. difficile. Основанием для анализа была история болезни пациента, а не консистенция пробы. На участке антигена результаты показывают, что в ходе анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* были получены примерно одинаковые результаты обнаружения бактериальных культур при анализе проб с различной консистенцией. На участке токсина результаты показывают, что в ходе анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* были получены примерно одинаковые результаты обнаружения тканевых культур при анализе проб с различной консистенцией.

Таблица 4. Реакция проб фекалий с различной консистенцией на участке антигена анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Количество проб (n = 978)	Жидкие пробы (n = 335)	Вязкие пробы (n = 522)	Плотные пробы (n = 121)
Положительный при анализе бактериальной культуры	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия антигена – положительный	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Отрицательный при анализе бактериальной культуры	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия антигена – отрицательный	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Таблица 5. Реакция проб фекалий с различной консистенцией на участке токсина анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Количество проб (n = 981)	Жидкие пробы (n = 336)	Вязкие пробы (n = 523)	Плотные пробы (n = 122)
Положительный при анализе тканевой культуры	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия токсина – положительный	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Отрицательный при анализе тканевой культуры	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Линия токсина – отрицательный	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Предел детектирования анализа: концентрация 0,63 нг/мл для токсина A, 0,16 нг/мл для токсина B и 0,8 нг/мл для глутаматдегидрогеназы.

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

Воспроизводимость анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* была определена с использованием 12 проб фекалий, которым были присвоены коды, чтобы избежать идентификации во время анализа. Тестирование проводилось в 3 независимых лабораториях, каждая из которых проверяла пробы в течение 3 дней. При анализе проб был получен прогнозируемый результат 100 % во всех случаях.

ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Пробы фекалий с присутствием следующих микроорганизмов с конечной концентрацией приблизительно 10^8 или более организмов на мл не вызывали реакцию на участках антигена или токсина анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Бактерия или патогенный организм: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (нетоксикогенные штаммы), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowan), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

Единственный организм, который не относится к *C. difficile* и дает реакцию в области анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*, – это штамм *Clostridium sordellii* VPI 9048. Этот штамм вырабатывает токсины HT и LT, которые являются гомологичными для токсинов A и B соответственно.

Следующие вирусы в количестве от $10^{3.3}$ до $10^{8.25}$ TCID единиц на 0,2 мл не вызывали реакцию в анализе *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Вирусы: Аденовирусы типов 1, 2, 3, 5, 40, 41, коронавирусы человека, вирусы Коксаки B2, B3, B4, B5, ECHO-вирусы 9, 11, 18, 22, 33, энтеровирусы типов 68, 69, 70, 71, ротавирусы.

ПРИМЕСИ

Следующие вещества (формулировка США) не влияют на результаты теста в случае присутствия в фекалиях в указанных концентрациях: муцин (3,5 %, вес/объем), человеческая кровь (40 % от объема), сульфат бария (5 %, вес/объем), Imodium® (5 % от объема), Kaopectate® (5 % от объема), Pepto-Bismol® (5 % от объема), стерическая/пальмитиновая кислота (40 %, вес/объем), метронидазол (0,25 %, вес/объем), ванкомицин (0,25 %, вес/объем).

РЕАКЦИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ, ПОЛУЧЕННЫХ В АГАРЕ ЦИКЛОСЕРИН-ЦЕФОКСИТИН-ФРУКТОЗА (CCFA)

Всего было проверено 103 клинических штамма *C. difficile*, полученных из анаэробной бактериальной культуры на агаре CCFA после 3 дней при температуре 37 °C, с использованием анализа *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. В рамках анализа отдельные колонии отбирались и перемешивались в *растворителе*, как рекомендуется для проб фекалий. Все 103 штамма дали положительную реакцию на антиген в ходе анализа.

70 из 103 штаммов (68 %) были получены из проб фекалий, которые дали положительный результат на наличие токсина *C. difficile* при анализе тканевой культуры. 56 из них (80 %) дали положительную реакцию на токсин при проверке после анаэробного роста на агаре CCFA в течение 3 дней при температуре 37 °C.

For Instruction Study Only

TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O teste TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* é um ensaio imunoenzimático rápido de membrana para a deteção simultânea do antígeno glutamato desidrogenase e das toxinas A e B do *Clostridium difficile* num único poço de reação. O teste deteta o antígeno da *C. difficile*, glutamato desidrogenase, como filtro para a presença de *C. difficile* e confirma a presença de *C. difficile* toxigénico detetando as toxinas A e B em amostras fecais de indivíduos com suspeita de contrair a doença *C. difficile*. O teste deve ser utilizado como um auxílio no diagnóstico da doença *C. difficile*. Tal como com outros testes de *C. difficile*, os resultados devem ser considerados conjuntamente com o histórico do doente.

EXPLICAÇÃO

Após o tratamento com antibióticos, muitos doentes desenvolvem problemas gastrointestinais, que vão desde diarreia leve a colite pseudomembranosa grave. Muitos casos das formas mais leves da doença gastrointestinal e a maioria dos casos de colite pseudomembranosa são causados por estirpes toxigénicas do *Clostridium difficile* (1). Este organismo é uma bactéria anaeróbica oportunista que cresce no intestino logo que existam alterações da flora normal devido aos antibióticos. As estirpes toxigénicas do *C. difficile* carregam os genes que codificam as toxinas enquanto as estirpes não toxigénicas não carregam os genes da toxina. O início da doença está associado às toxinas que são produzidas pelo organismo toxigénico. Acredita-se que os sintomas clínicos associados à doença acontecem devido, principalmente, à toxina A, que é uma enterotoxina prejudicial para os tecidos (2, 3). O *C. difficile* também produz uma segunda toxina, designada toxina B. A toxina B, que foi referida como citotoxina do organismo, é a toxina detetada pelo ensaio de cultura de tecidos atualmente utilizado por muitos laboratórios. As estirpes toxigénicas do *C. difficile* produzem ambas as toxinas, ou apenas a toxina B (4-7). O glutamato desidrogenase do *C. difficile* é um bom marcador de antígeno do organismo em fezes, porque é produzido em grandes quantidades por todas as estirpes, toxigénicas ou não toxigénicas (8-10). O antígeno pode ser detetado em amostras fecais utilizando o teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Um resultado positivo no teste de glutamato desidrogenase do *C. difficile* confirma a presença deste organismo numa amostra fecal; um resultado negativo indica a ausência do organismo. Um resultado positivo no teste de toxinas A e B confirma a presença de *C. difficile* toxigénico.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste de *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* utiliza anticorpos específicos do glutamato desidrogenase e das toxinas A e B do *C. difficile*. O dispositivo contém uma Janela de Reação com três linhas verticais de anticorpos imobilizados. A linha de teste de antígeno ("Ag") contém anticorpos contra a glutamato desidrogenase do *C. difficile*. A linha de controlo ("C") é uma linha pontilhada que contém anticorpos de antiperoxidase de rábano (HRP). A linha de teste de toxinas A e B ("Tox") contém anticorpos contra toxinas A e B do *C. difficile*. O *Conjugado* é composto por anticorpos da glutamato desidrogenase e anticorpos das toxinas A e B acompanhadas de peroxidase de rábano. Para executar o teste, a amostra é adicionada a um tubo contendo uma mistura de *Diluente* e *Conjugado*. A mistura de amostra-conjugado diluída é adicionada ao *Poço de Amostras* e o dispositivo pode incubar à temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante a incubação, qualquer glutamato desidrogenase e toxinas A e B da amostra ligam-se aos conjugados peroxidase-anticorpo. Os complexos de conjugado antígenos-anticorpo migram através uma almofada de filtro para uma membrana onde são capturados pela glutamato desidrogenase imobilizada específica e anticorpos específicos das toxinas A e B nas linhas. A *Janela de Reação* é posteriormente lavada com um *Tampão de Lavagem*, seguido pela adição de *Substrato*. Após um período de incubação de 10 minutos, a reação "Ag" é examinada visualmente para verificar o aparecimento de uma linha vertical azul no lado "Ag" da *Janela de Reação*. Uma linha azul indica um teste positivo. Se a "Ag" for positiva, então a reação "Tox" deve ser examinada visualmente para o aparecimento de uma linha azul no lado "Tox" da *Janela de Reação*. Uma linha azul indica um teste positivo. Uma reação positiva em "C", indicada por uma linha azul pontilhada vertical na parte "C" da *Janela de Reação*, confirma que o teste está a funcionar corretamente e os resultados são válidos.

MATERIAIS FORNECIDOS

MEM | DEV — ***Dispositivos de membrana*** – cada saqueta contém 1 dispositivo

DIL | SPE — ***Diluente* (22 ml por frasco)** – solução de proteína tamponizada com conjunto de conta-gotas graduado (contém 0,05% de ProClin® 300)*

WASH | REAG — ***Tampão de Lavagem* (12 ml por frasco)** – solução tamponizada com conjunto conta-gotas graduado (contém 0,05% de ProClin® 300)*

SUBS | REAG — ***Substrato* (3,5 ml por frasco)** – solução contendo tetrametilbenzidina

CONJ | ENZ — ***Conjugado* (2,5 ml por frasco)** – anticorpos específicos para glutamato desidrogenase associado a peroxidase de rábano e anticorpos específicos para toxinas A e B associados a peroxidase de rábano numa solução de proteínas tamponizada (contém 0,05% de ProClin® 300)*

CONTROL | + — ***Controlo positivo* (2 ml)** – antígeno numa solução de proteínas tamponizada

Pipetas de transferência de plástico descartáveis – graduadas em 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL e 500 µL.

IVD — Para utilização com diagnóstico *in vitro*

*Palavra-sinal: Aviso
H317: Pode causar uma reação cutânea alérgica
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATERIAIS E EQUIPAMENTO NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Pequenos tubos de ensaio (p. ex., tubos de microcentrifugadora de plástico ou tubos de vidro)
Sticks de aplicação *Temporizador* *Misturador de vórtice*
Luvas descartáveis para manusear amostras fecais *Pipeta e pontas*

VALIDADE E ARMAZENAMENTO

A data de validade do kit está indicada no rótulo. As datas de validade para cada componente estão listadas nos rótulos individuais. O kit deve ser armazenado entre 2° C e 8° C.

PRECAUÇÕES

1. Para utilização com diagnóstico *in vitro*. Apenas para uso profissional.
2. Reagentes de kits diferentes não devem ser misturados ou trocados. Não utilize um kit após a data de validade.
3. Cada componente do kit deve ser inspecionado relativamente a sinais de fuga. Na chegada, inspecione o kit para garantir que os componentes não estão congelados ou quentes ao toque devido a condições de transporte inadequadas.
4. Coloque todos os componentes À TEMPERATURA AMBIENTE ANTES DE OS UTILIZAR!
5. Os conjuntos de tampas, pontas e conta-gotas estão codificados por cores; NÃO misture nem troque!
6. Não congele os reagentes. O kit deve ser armazenado entre 2° C e 8° C.

For Instructional Use Only

7. A bolsa que contém o *Dispositivo de Membrana* deve estar à temperatura ambiente antes da abertura. Mantenha os dispositivos de membrana secos antes de usar.
8. Utilize amostras fecais no espaço de 72 horas após a recolha para obter resultados ideais. As amostras que são congeladas podem perder atividade devido ao congelamento e descongelamento. Se utilizar amostras congeladas, descongele-as à temperatura ambiente.
9. Mantenha os frascos de reagente na vertical quando dispensar os reagentes para garantir um tamanho de gotas consistente e um volume correto.
10. Após a utilização, as amostras e os dispositivos de membrana devem ser tratados e eliminados como potenciais riscos biológicos.
11. Os dispositivos de membrana não podem ser reutilizados.
12. O teste foi otimizado quanto à sensibilidade e à especificidade. As alterações ao procedimento especificado e/ou às condições de teste podem afetar a sensibilidade e a especificidade do teste. Não se desvie do procedimento especificado.
13. Esteja atento ao tempo total do ensaio quando testar mais de uma amostra fecal. Adicione *Diluente* primeiro, seguido de *Conjugado* a cada tubo de *Diluente*. Em seguida, adicione a amostra ao tubo de *Diluente/Conjugado*. Misture cuidadosamente todas as amostras diluídas e transfira para o *Dispositivo de Membrana*. A etapa de incubação de 15 minutos começa após a última mistura de amostra-conjugado diluída ter sido transferida para o *Dispositivo de Membrana* final.
14. Se o reagente do *Substrato* mudar para uma cor azul escura/violeta ligue para os serviços técnicos pedindo a substituição.
15. As amostras fecais podem conter agentes potencialmente infeciosos e devem ser manuseados ao "Nível 2 de Biossegurança" conforme recomendado no Manual CDC/NIH "Biossegurança nos Laboratórios Microbiológicos e Biomédicos."
16. Use luvas descartáveis quando fizer o teste.
17. O *Conjugado*, o *Diluente* e os reagentes do *Tampão de Lavagem* contêm 0,05% de ProClin® 300 como conservante. Embora a concentração seja baixa, ProClin® 300 é conhecido por ser nocivo (pode ocorrer sensibilização cutânea). Se surgir sensibilização /irritação ou erupção cutânea, procure ajuda/conselhos médicos. Retire a roupa contaminada e lave-a antes de a voltar a usar. Manuseie os reagentes de acordo com os regulamentos existentes relativos à segurança laboratorial e às boas práticas laboratoriais. Estão disponíveis Fichas de Dados de Segurança relativas a este produto; contacte o apoio técnico.
18. Respeite as indicações nacionais, regionais e locais relacionadas com a eliminação de resíduos.

RECOLHA, MANIPULAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS FECAIS

Tipos de Amostras Aceitáveis	Não Utilizar
Amostras Fecais Frescas	Amostras fecais em fixador à base de formol (ou seja, acetato de sódio formol, formol a 10 %, mertiolato formol)
Amostras Fecais Congeladas	Amostras fecais em fixador à base de álcool (ou seja, álcool polivinílico)
Amostras em meios de transporte (Cary Blair, C&S)	

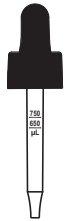
Armazenamento das Amostras Temperatura	Duração aceitável do armazenamento	Comentários
2° C – 8° C	72 horas	As amostras ideais têm menos de 24 horas
Congeladas ≤ -10° C	Mais de 72 horas	Descongelar à temperatura ambiente. Congelar e descongelar várias vezes pode resultar na perda de atividade da amostra devido à degradação de toxinas.

1. Os procedimentos padrão de recolha e manipulação utilizados internamente para amostras fecais são adequados.
2. As amostras fecais devem ser recolhidas em recipientes limpos e à prova de fugas.
3. NÃO se recomenda armazenar as amostras fecais no *Diluente*.
4. Não permita que as amostras fecais permaneçam na mistura de *Diluente/Conjugado* durante >24 horas.

PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

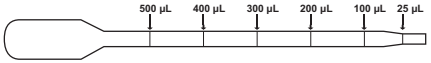
1. Coloque todos os reagentes e o número necessário de dispositivos à temperatura ambiente antes de utilizar. Recomenda-se retirar os reagentes da inserção de espuma para reduzir o tempo necessário para aquecer até à temperatura ambiente.
2. Prepare e rotule um pequeno tubo de ensaio para cada amostra e os controlos externos opcionais, se necessário.
3. Utilize o conjunto do conta-gotas graduado preto, adicione 750 µL (2ª graduação a partir da ponta) de Diluente a cada tubo para amostras fecais. **Para amostras em meio de transporte, como Cary Blair ou C&S, adicione 650 µL de (1ª graduação a partir da ponta) *Diluente* ao tubo.**

Tipo de Amostra	Volume de *Diluente*
Amostras Fecais Frescas	750 µL (2ª graduação a partir da ponta)
Amostras Fecais Congeladas (congeladas não diluídas)	750 µL (2ª graduação a partir da ponta)
Amostras em meios de transporte (Cary Blair, C&S)	650 µL (1ª graduação a partir da ponta)
Controlos Externos (positivo e negativo)	750 µL (2ª graduação a partir da ponta)



4. Adicione uma gota de *Conjugado* (frasco com tampa vermelha) a cada tubo.
5. Obtenha uma pipeta de transferência de plástico descartável (fornecida com o kit) para cada amostra - as pipetas têm graduações destacadas de 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL e 500 µL.

Pipeta de Transferência Graduada:



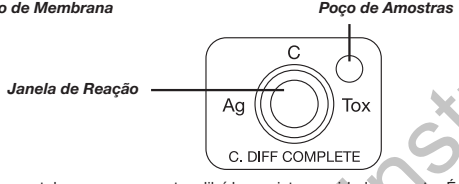
For Instructional Use Only

6. **Misture cuidadosamente todas as amostras independentemente da consistência - é essencial que as amostras fiquem uniformemente suspensas antes da transferência.**
   Amostras líquidas/semissólidas – pipete 25 µL de amostra com uma pipeta de transferência e dispense-a para a mistura de *Diluente/Conjugado*. Utilize a mesma pipeta de transferência para misturar a amostra diluída.
   Amostras formadas/sólidas – Tenha cuidado para adicionar a quantidade correta de fezes formadas à mistura da amostra. Misture a amostra cuidadosamente utilizando um stick de aplicação de madeira e transfira uma pequena porção (cerca de 2 mm de diâmetro, o equivalente a 25 µl) da amostra para a mistura Diluente/Conjugado. Emulsione a amostra utilizando o stick de aplicação.
   Amostras fecais nos meios de transporte Cary Blair ou C&S - pipete 100 µL (2.ª graduação a partir da ponta da pipeta de transferência) da amostra para a mistura de *Diluente/Conjugado* .
7. **Amostras de Controlo Externo Opcionais:**
   Controlo Positivo Externo - adicione uma gota de *Controlo Positivo* (frasco com tampa cinzenta) à mistura de *Diluente/Conjugado*.
   Controlo Negativo Externo - adicione 25 µL de *Diluente* à mistura de *Diluente/Conjugado*.

NOTA: Transferir muito pouca amostra, ou falhar na mistura e suspensão completa da amostra na mistura de Diluente/Conjugado, pode produzir um resultado de teste falso negativo. A adição de amostra fecal em excesso pode causar resultados inválidos devido ao fluxo de amostra limitado.

PROCEDIMENTO DE TESTE

1. Obtenha um *Dispositivo de Membrana* por amostra e um dispositivo por controlo negativo ou positivo externo opcional, conforme necessário. Os sacos de papel de alumínio que contêm os dispositivos devem ser colocados à temperatura ambiente antes da abertura. Utilize o dispositivo imediatamente após a abertura. Rotule cada dispositivo adequadamente e oriente-o numa superfície plana de forma a que a impressão "C. DIFF COMPLETE" esteja na parte inferior do dispositivo, e o Poço de Amostras pequeno esteja localizado no canto superior direito do dispositivo.



2. Feche todos os tubos com a amostra diluída e misture cuidadosamente. É possível atingir uma mistura adequada agitando em vórtice ou invertendo o tubo. Assim que uma amostra de doente ou *Controlo Positivo* tiver sido diluída na mistura de *Diluente/Conjugado*, pode ser incubada à temperatura ambiente por qualquer período até 24 horas antes de adicionar ao *Dispositivo de Membrana*.
3. Utilizando uma pipeta de transferência nova, transfira 500 µL da mistura de amostra-conjugado diluída para o ***Poço de Amostras*** (orifício mais pequeno no canto superior direito do dispositivo) de um *Dispositivo de Membrana*, tornando certa a expulsão da amostra de líquido para a almofada de drenagem dentro do *Dispositivo de Membrana*. Quando carregar a amostra para o poço de amostras, certifique-se de que a ponta da pipeta de transferência está oblíqua em relação à *Janela de Reação* (orifício maior no meio do dispositivo).
4. Incube o dispositivo à temperatura ambiente durante 15 minutos – a amostra penetrará através do dispositivo e uma área húmida espalhar-se-á ao longo da *Janela de Reação*.

NOTA PARA AMOSTRAS QUE NÃO MIGRAM:
Ocasionalmente, uma amostra diluída não migra corretamente e a Janela de Reação não se molha totalmente. Se a Janela de Reação não parecer estar completamente molhada no espaço de 5 minutos após a adição da amostra ao Poço de Amostras, então adicione 100 µl (4 gotas) de Diluente ao Poço de Amostras e espere mais 5 minutos (num total de 20 minutos).

5. Após a incubação, adicione 300 µL de *Tampão de Lavagem* à ***Janela de Reação*** utilizando o conjunto do conta-gotas branco graduado. Permita que o *Tampão de Lavagem* flua através da membrana da Janela de Reação e seja totalmente absorvido.
6. Adicione 2 gotas de *Substrato* (frasco com tampa branca) à ***Janela de Reação***. Leia e registe os resultados visualmente após 10 minutos.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

1. A interpretação do teste é mais fiável quando o dispositivo é lido imediatamente no final do período de reação de 10 minutos. Leia o dispositivo a uma distância de trabalho normal numa área bem iluminada. Veja com uma linha de visão diretamente sobre o dispositivo.
2. Observe o dispositivo quanto ao aparecimento de pontos azuis no meio da *Janela de Reação* representando o controlo positivo interno. O aparecimento de qualquer(quaisquer) ponto(s) de controlo representa um controlo interno válido. O fundo pode aparecer com cor branca a azul clara. Observe o dispositivo quanto ao aparecimento de linhas azuis nos lados "Ag" e "Tox" da *Janela de Reação* representando as linhas de teste. As linhas podem aparecer com uma intensidade ténue a escura.
3. **Resultado de Antígeno Positivo ("Ag"):** Um resultado positivo de antígeno pode ser interpretado a qualquer altura entre a adição de *Substrato* e os 10 minutos de tempo de leitura. Para um resultado positivo de antígeno, a linha "Ag" azul e a linha de controlo azul pontilhada abaixo de "C" estão visíveis (Figura 1a). As linhas podem aparecer com uma intensidade ténue a escura. Uma linha parcial óbvia é interpretada como um resultado positivo. Não interprete a descoloração da membrana como um resultado positivo. Um resultado positivo indica a presença de *C. difficile*.
4. **Resultado Positivo de Antígeno e Toxinas ("Tox"):** Se o resultado do antígeno for positivo (ou seja, uma linha "Ag" azul e um controlo azul pontilhado abaixo de "C" forem visíveis), avance para a interpretação do resultado da toxina. Um resultado positivo de toxina pode ser interpretado a qualquer altura entre a adição de *Substrato* e os 10 minutos de tempo de leitura. Para um resultado de toxina positivo, estará visível uma linha "Tox" azul (Figura 1b). As linhas podem aparecer com uma intensidade ténue a escura. Uma linha parcial óbvia é interpretada como um resultado positivo. Não interprete a descoloração da membrana como um resultado positivo. Um resultado positivo indica a presença de toxina de *C. difficile*.
5. **Resultado Negativo:** um teste não pode ser interpretado como negativo ou inválido até 10 minutos após a adição de *Substrato*. Uma linha azul pontilhada simples está visível no meio da *Janela de Reação,* abaixo de "C" e nenhuma linha de teste está visível no lado "Ag" ou no lado "Tox" da *Janela de Reação* (Figura 1c). Um resultado negativo na porção de antígeno indica que o antígeno de *C. difficile* está ausente da amostra ou está abaixo do limite de deteção do teste. Um resultado negativo na porção de toxina indica que a toxina de C. difficile está ausente da amostra ou está abaixo do limite de deteção do teste.
6. **Resultado Inválido:** não está visível nenhuma linha na Janela de Reação (Figura 1d). O resultado do teste é inválido se uma linha pontilhada azul não estiver presente abaixo de "C" no fim do período de reação (Figuras 1e, 1f, 1g).
7. **Antígeno Negativo ("Ag"), Toxina Positiva ("Tox"):** Uma percentagem baixa de amostras pode ter resultado negativo para o antígeno mas positivo para a toxina. Estas amostras devem ser consideradas como indeterminadas e testadas novamente utilizando uma amostra fresca (Figura 1h). Se a amostra for testada novamente com resultado negativo para o antígeno mas positivo para a toxina, registe como resultado de toxina positivo.

For instructional use Only

FIGURA 1: INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS DO *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

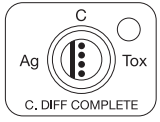


Figura 1a
Resultado de Antígeno Positivo

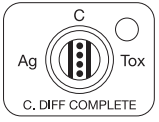


Figura 1b
Resultado de Antígeno e Toxina Positivo

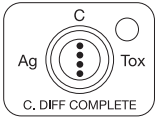


Figura 1c
Resultado Negativo

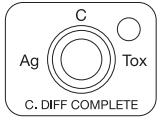


Figura 1d
Resultado Inválido

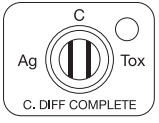


Figura 1e
Resultado Inválido

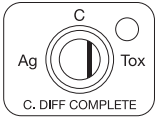


Figura 1f
Resultado Inválido

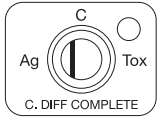


Figura 1g
Resultado Inválido

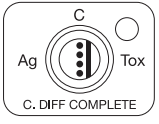


Figura 1h
Ver #7 para Interpretação

CONTROLO DE QUALIDADE

Interno: uma linha pontilhada azul deve estar visível no meio da *Janela de Reação*, abaixo de "C" em cada *Dispositivo de Membrana* testado. O aparecimento dos pontos de controlo azuis confirma que a amostra e os reagentes foram adicionados corretamente, que os reagentes estavam ativos no momento da realização do ensaio e que a amostra migrou corretamente através do *Dispositivo de Membrana*. Também confirma a reatividade dos outros reagentes associados ao ensaio. Um fundo uniforme na área de resultados é considerado um controlo negativo interno. Se o teste tiver sido realizado corretamente e os reagentes estiverem a funcionar adequadamente, o fundo será branco para dar um resultado percetível.

Externo: a reatividade do kit *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* deve ser verificada assim que o receber utilizando o *Controlo Positivo* e o controlo negativo (*Diluente*). O *Controlo Positivo* é fornecido com o kit (frasco com tampa cinzenta). O *Controlo Positivo* confirma a reatividade dos outros reagentes associados ao ensaio e não se destina a assegurar precisão no corte analítico do ensaio. Utiliza-se *diluente* para o controlo negativo. Pode ser realizados testes adicionais com os controlos para cumprir as exigências dos regulamentos locais, estatais e/ou federais e/ou das organizações acreditadas.

LIMITAÇÕES

1. O teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* é utilizado para detetar o antígeno e a(s) toxina(s) do C. difficile em amostras fecais. O teste confirma a presença da toxina nas fezes e esta informação deve ser tomada em consideração pelo médico à luz do histórico clínico e do exame físico do doente. O teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* detetará níveis de toxina A a ≥0,63 ng/ml, toxina B a ≥0,16 ng/ml e glutamato desidrogenase a ≥0,8 ng/ml.
2. As amostras fecais são extremamente complexas. Os resultados ideais com o teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* são obtidos com as amostras que têm menos de 24 horas. As amostras mais diluídas podem ser armazenadas entre 2° C e 8° C durante 72 horas antes de se observar uma degradação significativa da toxina. Se as amostras não forem testadas dentro deste período de tempo, podem ser congeladas e descongeladas. No entanto, repetidos congelamentos e descongelamentos podem resultar em perda de imunorreatividade de antígenos e toxinas A e B.
3. Algumas amostras podem dar reações fracas. Isto pode acontecer devido a uma série de fatores como a presença de baixos níveis de antígeno e/ou de toxina, a presença de substâncias aglutinantes ou enzimas inativadoras nas fezes. As linhas podem aparecer com uma intensidade ténue a escura. Estas amostras devem ser reportadas como positivas se se observar qualquer linha azul, mesmo que seja parcial. Uma linha azula parcial óbvia é interpretada como um resultado positivo.
4. Não podem ser utilizadas amostras fecais preservadas em formol a 10 %, mertiolato formol, acetato de sódio formol ou álcool polivinílico.
5. O teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* é qualitativo. A intensidade da cor não deve ser interpretada quantitativamente.
6. Alguns isolados de *C. sordellii* podem reagir no teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* devido à produção de toxinas imunologicamente relacionadas (1).
7. Foram reportadas em crianças taxas de colonização até 50 %. Uma taxa elevada foi também relatada em doentes com fibrose cística (1,3). Os resultados podem aparecer positivos nestes grupos, mas devem ser vistos juntamente com o potencial de serem um transportador colonizado.
8. O único organismo não*C. difficile* que reage na porção de toxina do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* foi o *Clostridium sordelliiV*PI 9048. Esta estirpe produz toxinas HT e LT, que são homólogas às toxinas A e B, respetivamente.
9. Não existem dados sobre os efeitos de lavagens intestinais, enemas de bário, laxantes ou preparações para os intestinos no desempenho do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Todos estes procedimentos podem resultar na diluição extensiva ou na presença de aditivos que podem afetar o desempenho do teste.

VALORES ESPERADOS

A doença *Clostridium difficile* é essencialmente uma doença nosocomial de doentes idosos, e a frequência da doença depende de fatores como a população de doentes, o tipo de instituição e a epidemiologia. A incidência reportada da doença *C. difficile* em doentes com diarreia associada a antibióticos pode variar de 5 a 20 % e os hospitais podem experimentar taxas menores ou maiores do que este intervalo. É importante considerar quaisquer resultados de teste em conjunto com sintomas clínicos porque alguns adultos saudáveis e um grande número de crianças saudáveis (até 50 %) terão um resultado positivo para a toxina de *C. difficile*. Para além disso, foram reportadas taxas de transporte de 22 % a 32 % do *C. difficile* em doentes com fibrose cística (1,3). Em estudos levados a cabo para este dispositivo, utilizando doentes sintomáticos, a incidência de toxinas A e B foi de 12 % e de GDH foi de 18 %. Um resultado positivo na porção de antígeno do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* confirma a presença de *C. difficile* numa amostra fecal; um resultado negativo indica a ausência do organismo. Um resultado positivo na porção da toxina do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* confirma a presença de *C. difficile* numa amostra fecal; um resultado negativo indica a ausência da toxina ou níveis insuficientes de toxina para deteção.

For instructional use only

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Avaliação clínica da porção de antígeno do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

A porção de antígeno do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* foi comparada com a cultura bacteriológica. As amostras incluídas na avaliação foram apresentadas aos laboratórios clínicos para ensaios de rotina. O teste de cultura bacteriológica foi realizado de acordo com procedimentos internos. Os resultados estão exibidos na Tabela 1.

Tabela 1. Resumo do desempenho clínico comparando o teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* com a cultura bacteriológica

n = 1126	Cultura Bacteriológica Positiva	Cultura Bacteriológica Negativa
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Antígeno Positiva	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Antígeno Negativa	21	842

		Limites de Confiança 95 %
Sensibilidade	90,5%	85,7 – 93,9
Especificidade	93,1%	91,2 – 94,7
Valor Preditivo Positivo	76,4%	70,7 – 81,3
Valor Preditivo Negativo	97,6%	96,2 – 98,4
Correlação	92,6%	91,8 – 93,4

Foram avaliadas amostras discrepantes usando testes ELISA para glutamato desidrogenase de *C. difficile*.
Vinte e nove das 62 amostras com resultado positivo falso foram positivas noutro teste de GDH e foram consideradas positivas verdadeiras.
Treze das 21 amostras com resultado negativo falso foram negativas noutro teste de GDH e foram consideradas negativas verdadeiras.

A porção de antígeno do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* foi comparada com o ensaio de cultura de tecidos para a deteção da toxina de C. difficile. As amostras incluídas na avaliação foram apresentadas aos laboratórios clínicos para ensaios de rotina. Os resultados são mostrados na Tabela 2. A porção de antígeno do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* detetou 98,7 % das amostras positivas de cultura de tecidos.

Tabela 2. Resumo do desempenho clínico comparando o teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* com o ensaio de cultura de tecidos

n = 1126	Cultura de Tecidos Positiva	Cultura de Tecidos Negativa
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Antígeno Positiva	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Antígeno Negativa	2	861

Avaliação clínica da porção de toxina do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

A porção de toxina do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* foi comparada com o ensaio de cultura de tecidos em dois laboratórios clínicos e internamente no TECHLAB, Inc. As amostras incluídas na avaliação foram apresentadas aos laboratórios clínicos para ensaios de rotina. Os resultados estão exibidos na Tabela 3.

Tabela 3. Resumo do desempenho clínico comparando o teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* com o ensaio de cultura de tecidos

n = 1126	Cultura de Tecidos Positiva	Cultura de Tecidos Negativa
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Toxina Positiva	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Toxina Negativa	19	964

		Limites de Confiança 95 %
Sensibilidade	87,8%	81,4 - 92,3
Especificidade	99,4%	98,6 - 99,7
Valor Preditivo Positivo	95,8%	90,7 - 98,3
Valor Preditivo Negativo	98,1%	96,9 - 98,8
Correlação	97,8%	97,6 - 98,0

As amostras discrepantes foram avaliadas usando testes ELISA atuais para as toxinas A e B.
Cinco das 6 amostras com resultado positivo falso tiveram resultado positivo no teste ELISA e foram consideradas positivas verdadeiras.
Doze das 19 amostras com resultado negativo falso tiveram resultado negativo pelo teste ELISA e foram consideradas negativas verdadeiras.

For Instructional Use Only

EFEITO DA CONSISTÊNCIA DA AMOSTRA FECAL

Efeito da consistência da amostra fecal no teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

A reação das amostras fecais de consistências diferentes na porção de antígeno (n=978) e na porção de toxina (n=981) do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® é mostrada nas Tabelas 4 e 5. As percentagens das reações positivas utilizando um ensaio de cultura ou um teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® foram similares em todos os três tipos de amostras fecais (líquidas, semissólidas e sólidas). Todas as amostras foram submetidas ao teste de C. difficile. A base da apresentação foi o histórico clínico do doente e não a consistência da amostra. Na porção do antígeno, os resultados mostram que o teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teve resultados similares à cultura bacteriológica ao testar amostras de consistências diferentes. Na porção da toxina, os resultados mostram que o teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® teve resultados similares à cultura bacteriológica ao testar amostras de consistências diferentes.

Tabela 4. Reação de amostras fecais de diferentes consistências na porção de antígeno do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

Número de amostras (n = 978)	Amostras Líquidas (n = 335)	Amostras semissólidas (n = 522)	Amostras Sólidas (n = 121)
Positivo para ensaio de cultura bacteriológica	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Antígeno Positiva	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Negativo para ensaio de cultura bacteriológica	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Antígeno Negativa	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tabela 5. Reação de amostras fecais de diferentes consistências na porção de toxina do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®

Número de amostras (n = 981)	Amostras Líquidas (n = 336)	Amostras semissólidas (n = 523)	Amostras Sólidas (n = 122)
Positivo para ensaio de cultura de tecido	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Toxina Positiva	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Negativo para ensaio de cultura de tecido	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Linha de Toxina Negativa	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

O corte para o ensaio foi estabelecido em concentrações de 0,63 ng/ml para a toxina A, 0,16 ng/ml para a toxina B e 0,8 ng/ml para a glutamato desidrogenase.

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® foi determinada utilizando 12 amostras fecais que foram codificadas para evitar a sua identificação durante o teste. O teste foi efetuado em 3 laboratórios independentes, que testaram as amostras durante 3 dias. As amostras produziram os resultados esperados 100 % das vezes.

REATIVIDADE CRUZADA

As amostras fecais inoculadas com os microrganismos seguintes a uma concentração final de aproximadamente 10^8 organismos ou superior por ml não reagiram na porção de antígeno ou toxina do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®:

Bactéria ou Patogénio: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (não toxigénico)*, Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC*, Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7*, Escherichia coli ETEC, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans)*, Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

O único organismo não*C. difficile* que reage na porção de toxina do teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*® foi o *Clostridium sordellii*VPI 9048. Esta estirpe produz toxinas HT e LT, que são homólogas às toxinas A e B, respetivamente.

Os vírus seguintes de $10^{3,3}$ to $10^{8,25}$ unidades TCID por 0,2 ml não reagiram no teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®:

Vírus: Tipos de adenovírus 1, 2, 3, 5, 40, 41, coronavírus humanos, vírus de Coxsackie B2, B3, B4, B5, Ecovírus 9, 11, 18, 22, 33, tipo de Enterovírus 68, 69, 70, 71, Rotavírus.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As seguintes substâncias (formulação dos EUA) não tiveram nenhum efeito sobre os resultados dos testes quando presentes nas fezes nas concentrações indicadas: mucina (3,5 % p/v), sangue humano (40 % v/v), sulfato de bário (5 % p/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), ácido esteárico/palmítico (40 % p/v), Metronidazol (0,25 % p/v), Vancomicina (0,25 % p/v).

REAÇÃO DE ISOLADOS CLÍNICOS OBTIDA EM GELOSE CICLOSERINA CEFOXITINA-FRUTOSE (CCFA)

Testou-se um total de 103 isolados clínicos de *C. difficile*, obtidos por cultura bacteriológica anaeróbica em CCFA após 3 dias a 37° C, no teste *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®. Para a análise, as colónias individuais foram escolhidas e suspensas em *Diluente* conforme recomendado para amostras fecais. Todos os 103 isolados tiveram uma reação de antígeno positiva no teste.

Setenta dos 103 isolados (68 %) resultaram de amostras fecais que tiveram um resultado positivo para a toxina do *C. difficile* por ensaio de cultura de tecido. Destes, 56 (80 %) tiveram uma reação de toxina positiva quando filtrados após o crescimento anaeróbico em CCFA durante 3 dias a 37° C.

For Instruction Manual Only

REFERENCES / REFERENCIAS / LITERATURHINWEISE / RÉFÉRENCES / LITERATURA / REFERENCER / ВІВЛІОГРАФІА / REFERENCIÁK / BIBLIOGRAFIA / REFERENTIES / REFERANSER / REFERANSER / REFERANSLAR / ССЫЛКИ / REFERÊNCIAS

1. Lyerly, D. M., H. C. Krivan, and T. D. Wilkins. 1988. *Clostridium difficile*: its disease and toxins. Clin. Microbiol. Rev. **1**: 1-18.
2. Lyerly, D. M., K. E. Saum, D. K. MacDonald, and T. D. Wilkins. 1985. Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. Infect. Immun. **47**: 349-352.
3. Borriello, S. P., F. E. Barclay, A. R. Welch, J. M. Ketley, T. J. Mitchell, J. Stephen, and G. E. Griffin. 1985. Host and microbial determinants of the spectrum of *Clostridium difficile* mediated gastrointestinal disorders. Microecol. Ther. **15**: 231- 236.
4. Lyerly, D. M., N. M. Sullivan, and T. D. Wilkins. 1983. Enzyme-linked immunosorbent assay for *Clostridium difficile* toxin A. J. Clin. Microbiol. **17**: 72-78.
5. Laughon, B. E., R. P. Viscidi, S. L. Gdovin, R. H. Yolken, and J. G. Bartlett. 1984. Enzyme immunoassays for detection of *Clostridium difficile* toxins A and B in fecal specimens. J. Infect. Dis. **149**: 781-788.
6. Lyerly, D. M., L. A. Barroso, and T. D. Wilkins. 1992. Characterization of a toxin A-/toxin B+ isolate of *Clostridium difficile*. Infect. Immun. **60**: 4633-4639.
7. Dove, C. H., S. Z. Wang, S. B. Price, C. J. Phelps, D. M. Lyerly, T. D. Wilkins, and J. L. Johnson. 1990. Molecular characterization of the *Clostridium difficile* toxin A gene. Infect. Immun. **58**: 480-488.
8. Zheng, L., S. F. Keller, D. M. Lyerly, R. J. Carman, C. W. Genheimer, C. A. Gleaves, S. J. Kohlhepp, S. Young, S. Perez, and K. Ye. 2004. Multicenter Evaluation of a New Screening Test that Detects *Clostridium difficile* in Fecal Specimens. J. Clin. Microbiol. **42**: 3837-3840.
9. Miles, B. L., J. A. Siders, and S. D. Allen. 1988. Evaluation of a commercial latex test for *Clostridium difficile* for reactivity with *C. difficile* and cross-reactions with other bacteria. J. Clin. Microbiol. **26**: 2452-2455.
10. Lyerly, D. M., and T. D. Wilkins. 1986. Commercial latex test for *Clostridium difficile* Toxin A does not detect Toxin A. J. Clin. Microbiol. **23**: 622-623.

For Instructional Use Only

For Instructional Use Only

Developed and Manufactured by:

TECHLAB®

TECHLAB, Inc.
2001 Kraft Drive
Blacksburg, VA 24060-6358, USA
TEL 1-800-832-4522 USA
TEL 1-540-953-1664 Outside USA

EC REP Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Technical Support - Advice Line

Further information can be obtained from contacting TECHLAB® Technical Support:

US	+1 800 TECHLAB
Phone	(540) 953-1664
Fax	(540) 953-1665
Email	ts@techlab.com

Made in the USA.
© 2021 TECHLAB, Inc. All rights reserved.
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE, the TECHLAB Logo, and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc.
ProClin is a trademark of Rohm and Haas Company.
All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.
RMS #91-T525C-02-TL Issued: 07/2021

For Instructional Use Only

COLORACIÓN FIELD

Juego de soluciones para la coloración rápida de FIELD, coloracion para hemoparásitos uso en microscopía.

IVD

USO PREVISTO Y PRINCIPIO

La coloración de FIELD es una coloración acuosa basada en la coloración de Romanovsky que consiste en dos soluciones (Solución A y Solución B) y una solución tampón (amortiguadora).
La coloración de FIELD es una coloración rápida para la identificación de Hemoparásitos.
El típico color de los núcleos celulares, mayoritariamente rojo púrpura, se basa en la interacción molecular entre eosina y un complejo azur A- ADN. La intensidad de la coloración depende del contenido de azur A y de la relación entre azur A y eosina amarilla. El resultado de tinción puede ser influido por diferentes factores como el valor del pH de la solución y de la solución tampón, las substancias tampón (amortiguadores), el tiempo de tinción y la fijación.

CONTENIDOS

R 1 **SOLUCION "A" - Listo para su uso**
Azur A R.A., Azul de metileno R.A., Di-sodio hidrogenofosfato anhidro R.A., Potasio Di-hidrogenofosfato R.A., Agua desmineralizada tipo II

R 2 **SOLUCION "B" - Listo para su uso**
Eosina Amarillenta R.A., Di-Sodio hidrogenofosfato R.A., Potasio Di-hidrogenofosfato R.A., Agua desmineralizada tipo II

R 3 **AGUA AMORTIGUADORA - Listo para su uso**
Di-Sodio hidrogenofosfato, Potasio Di- hidrogenofosfato, Agua desmineralizada tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 Solución A y la solución R2 Solución B son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de coloración
- Frasco lavador
- Agua
- Alcohol metílico
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Se deben usar láminas nuevas y pre-lavadas con alcohol al 96% para quitar la grasa.
Se limpia el dedo del paciente con Alcohol, y deja secar.
Se realiza la punción, la primera gota se descarta y con la lámina se recoge una sola gota. (No se debe tocar la piel con la lámina). Con la ayuda de otra lámina se hace un extendido delgado y corto.

Toda muestra biológica debe ser considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Se deja secar la lámina durante 10 minutos.
2. Sumérjase el portaobjeto de 1 a 3 segundos en la **SOLUCIÓN A**. Escurra sobre un papel.
3. Introduzca suavemente en **AGUA AMORTIGUADORA** 3 segundos. Escurrir.
4. Sumérjase de 1 a 4 segundos en **SOLUCIÓN B**. Escurrir.
5. Introduzca en **AGUA AMORTIGUADORA** 3 segundos. Escurrir.
6. Se seca a temperatura ambiente.
7. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente ha dado resultados satisfactorios en nuestros laboratorios. Las preferencias de color individuales pueden precisar ligeros ajustes de los tiempos.

RESULTADOS PREVISTOS

Tipo de célula	Resultado
Parásitos sanguíneos	Núcleo rojo citoplasma del protozoario azul
Linfocitos	Núcleo azul violeta citoplasma azul
Monolitos	Núcleo (lobulado) azul violeta citoplasma azul claro
Granulocitos neutrófilos	Núcleo azul oscuro citoplasma rosa pálido gránulos tono rosado a azul claro
Granulocitos eosinófilos	Núcleo azul citoplasma rosa pálido gránulos rojo ladrillo
Granulocitos basófilos	Núcleo purpura a azul oscuro gránulos azul oscuro-negros
Trombocitos (Plaquetas)	Azul
Eritrocitos	Rojizo

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
El control de calidad en la microscopia de extendidos sanguíneos depende directamente de la formación y experiencia del profesional que validara la calidad de los extendidos, coloración, etc..

BIBLIOGRAFÍA

1.Hematology: Principles and Procedures, Sixth Edition, Brown AB, Lea & Febiger,Philadelphia 1993 p101
2. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).
3. Moody A.H and Fleck S.L.(1985) Versatile Field's stain; J. Clin Pathol 38(7); 842-3

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

COLORACIÓN FIELD

Juego de soluciones para la coloración rápida de FIELD, coloracion para hemoparásitos uso en microscopía.

IVD

USO PREVISTO Y PRINCIPIO

La coloración de FIELD es una coloración acuosa basada en la coloración de Romanovsky que consiste en dos soluciones (Solución A y Solución B) y una solución tampón (amortiguadora).
La coloración de FIELD es una coloración rápida para la identificación de Hemoparásitos.
El típico color de los núcleos celulares, mayoritariamente rojo púrpura, se basa en la interacción molecular entre eosina y un complejo azur A- ADN. La intensidad de la coloración depende del contenido de azur A y de la relación entre azur A y eosina amarilla. El resultado de tinción puede ser influido por diferentes factores como el valor del pH de la solución y de la solución tampón, las substancias tampón (amortiguadores), el tiempo de tinción y la fijación.

CONTENIDOS

R 1 **SOLUCION "A" - Listo para su uso**
Azur A R.A., Azul de metileno R.A., Di-sodio hidrogenofosfato anhidro R.A., Potasio Di-hidrogenofosfato R.A., Agua desmineralizada tipo II

R 2 **SOLUCION "B" - Listo para su uso**
Eosina Amarillenta R.A., Di-Sodio hidrogenofosfato R.A., Potasio Di-hidrogenofosfato R.A., Agua desmineralizada tipo II

R 3 **AGUA AMORTIGUADORA - Listo para su uso**
Di-Sodio hidrogenofosfato, Potasio Di- hidrogenofosfato, Agua desmineralizada tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 Solución A y la solución R2 Solución B son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de coloración
- Frasco lavador
- Agua
- Alcohol metílico
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Se deben usar láminas nuevas y pre-lavadas con alcohol al 96% para quitar la grasa.
Se limpia el dedo del paciente con Alcohol, y deja secar.
Se realiza la punción, la primera gota se descarta y con la lámina se recoge una sola gota. (No se debe tocar la piel con la lámina). Con la ayuda de otra lámina se hace un extendido delgado y corto.

Toda muestra biológica debe ser considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Se deja secar la lámina durante 10 minutos.
2. Sumérjase el portaobjeto de 1 a 3 segundos en la **SOLUCIÓN A**. Escurra sobre un papel.
3. Introduzca suavemente en **AGUA AMORTIGUADORA** 3 segundos. Escurrir.
4. Sumérjase de 1 a 4 segundos en **SOLUCIÓN B**. Escurrir.
5. Introduzca en **AGUA AMORTIGUADORA** 3 segundos. Escurrir.
6. Se seca a temperatura ambiente.
7. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente ha dado resultados satisfactorios en nuestros laboratorios. Las preferencias de color individuales pueden precisar ligeros ajustes de los tiempos.

RESULTADOS PREVISTOS

Tipo de célula	Resultado
Parásitos sanguíneos	Núcleo rojo citoplasma del protozoario azul
Linfocitos	Núcleo azul violeta citoplasma azul
Monolitos	Núcleo (lobulado) azul violeta citoplasma azul claro
Granulocitos neutrófilos	Núcleo azul oscuro citoplasma rosa pálido gránulos tono rosado a azul claro
Granulocitos eosinófilos	Núcleo azul citoplasma rosa pálido gránulos rojo ladrillo
Granulocitos basófilos	Núcleo purpura a azul oscuro gránulos azul oscuro-negros
Trombocitos (Plaquetas)	Azul
Eritrocitos	Rojizo

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
El control de calidad en la microscopia de extendidos sanguíneos depende directamente de la formación y experiencia del profesional que validara la calidad de los extendidos, coloración, etc..

BIBLIOGRAFÍA

1.Hematology: Principles and Procedures, Sixth Edition, Brown AB, Lea & Febiger,Philadelphia 1993 p101
2. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).
3. Moody A.H and Fleck S.L.(1985) Versatile Field's stain; J. Clin Pathol 38(7); 842-3

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

COLORACIÓN FIELD

Juego de soluciones para la coloración rápida de FIELD, coloracion para hemoparásitos uso en microscopía.

IVD

USO PREVISTO Y PRINCIPIO

La coloración de FIELD es una coloración acuosa basada en la coloración de Romanovsky que consiste en dos soluciones (Solución A y Solución B) y una solución tampón (amortiguadora).
La coloración de FIELD es una coloración rápida para la identificación de Hemoparásitos.
El típico color de los núcleos celulares, mayoritariamente rojo púrpura, se basa en la interacción molecular entre eosina y un complejo azur A- ADN. La intensidad de la coloración depende del contenido de azur A y de la relación entre azur A y eosina amarilla. El resultado de tinción puede ser influido por diferentes factores como el valor del pH de la solución y de la solución tampón, las substancias tampón (amortiguadores), el tiempo de tinción y la fijación.

CONTENIDOS

R 1 **SOLUCION "A" - Listo para su uso**
Azur A R.A., Azul de metileno R.A., Di-sodio hidrogenofosfato anhidro R.A., Potasio Di-hidrogenofosfato R.A., Agua desmineralizada tipo II

R 2 **SOLUCION "B" - Listo para su uso**
Eosina Amarillenta R.A., Di-Sodio hidrogenofosfato R.A., Potasio Di-hidrogenofosfato R.A., Agua desmineralizada tipo II

R 3 **AGUA AMORTIGUADORA - Listo para su uso**
Di-Sodio hidrogenofosfato, Potasio Di- hidrogenofosfato, Agua desmineralizada tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 Solución A y la solución R2 Solución B son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de coloración
- Frasco lavador
- Agua
- Alcohol metílico
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Se deben usar láminas nuevas y pre-lavadas con alcohol al 96% para quitar la grasa.
Se limpia el dedo del paciente con Alcohol, y deja secar.
Se realiza la punción, la primera gota se descarta y con la lámina se recoge una sola gota. (No se debe tocar la piel con la lámina). Con la ayuda de otra lámina se hace un extendido delgado y corto.

Toda muestra biológica debe ser considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Se deja secar la lámina durante 10 minutos.
2. Sumérjase el portaobjeto de 1 a 3 segundos en la **SOLUCIÓN A**. Escurra sobre un papel.
3. Introduzca suavemente en **AGUA AMORTIGUADORA** 3 segundos. Escurrir.
4. Sumérjase de 1 a 4 segundos en **SOLUCIÓN B**. Escurrir.
5. Introduzca en **AGUA AMORTIGUADORA** 3 segundos. Escurrir.
6. Se seca a temperatura ambiente.
7. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente ha dado resultados satisfactorios en nuestros laboratorios. Las preferencias de color individuales pueden precisar ligeros ajustes de los tiempos.

RESULTADOS PREVISTOS

Tipo de célula	Resultado
Parásitos sanguíneos	Núcleo rojo citoplasma del protozoario azul
Linfocitos	Núcleo azul violeta citoplasma azul
Monolitos	Núcleo (lobulado) azul violeta citoplasma azul claro
Granulocitos neutrófilos	Núcleo azul oscuro citoplasma rosa pálido gránulos tono rosado a azul claro
Granulocitos eosinófilos	Núcleo azul citoplasma rosa pálido gránulos rojo ladrillo
Granulocitos basófilos	Núcleo purpura a azul oscuro gránulos azul oscuro-negros
Trombocitos (Plaquetas)	Azul
Eritrocitos	Rojizo

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
El control de calidad en la microscopia de extendidos sanguíneos depende directamente de la formación y experiencia del profesional que validara la calidad de los extendidos, coloración, etc..

BIBLIOGRAFÍA

1.Hematology: Principles and Procedures, Sixth Edition, Brown AB, Lea & Febiger,Philadelphia 1993 p101
2. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).
3. Moody A.H and Fleck S.L.(1985) Versatile Field's stain; J. Clin Pathol 38(7); 842-3

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

COLORANTE RETICULOCITOS - ACB

Colorante para la tinción de reticulocitos en sangre

IVD

USO PREVISTO

El COLORANTE RETICULOCITOS - ACB es utilizado en el examen hematológico de muestras de origen humano para la tinción de reticulocitos en sangre.

PRINCIPIO

Los reticulocitos son glóbulos rojos jóvenes, que representan normalmente de 0,5 a 1,5 % del total de los glóbulos rojos circulantes. Se caracterizan por ser algo más grandes que los glóbulos rojos maduros y por contener una red de material basófilo en su interior.
Su abundancia en la circulación periférica es un índice de la actividad eritropoyética. Se cuentan cifras altas de reticulocitos en los primeros días de vida, después de una pérdida de sangre o hemorragia y después de tratar la anemia carencial con sustancias específicas.

El recuento se realiza por tinción diferencial de la red de material basófilo de los reticulocitos con un colorante supravital: el azul brillante de cresilo. Mientras más joven es el reticulocito más difuso es el retículo. Cuando la célula madura, el mismo se circunscribe al centro y finalmente queda como gránulos diseminados. Los reticulocitos presentan un aspecto reticular o granuloso teñido intensamente de azul.

CONTENIDOS

R 1 **COLORANTE RETICULOCITOS-ACB**
-Listo para su uso
Azul de Cresilo Brillante R.A., Sodio Cloruro R.A, Agua desmineralizada tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Pipeta glóbulos blancos
- Tubos de ensayo
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Sangre venosa, en casos excepcionales sangre capilar

Toda muestra biológica debe ser considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Usando una pipeta para glóbulos blancos, tome sangre capilar o venosa hasta la marca 0,5 y luego a 1,0 con el colorante. Lleve la mezcla al bulbo de la pipeta, mezcle bien y deje en reposo 10 minutos.
2. Pasado el tiempo y descartando las primeras gotas, coloque una gota de la mezcla en una lamina portaobjetos limpia y efectúe un extendido de la manera usual.
3. Deje secar y montar con aceite de inmersión, observar al microscopio óptico con gran aumento (100X) y contar 500 elementos, eligiendo la zona del frotis donde no haya superposición de glóbulos.
4. Los reticulocitos se observan teñidos de azul con una red de cromatina en el interior. Obtener el porcentaje de reticulocitos en esos 500 elementos.

CÁLCULO

% Reticulocitos = # Reticulocitos por 500 Eritrocitos x 0,2

VALORES DE REFERENCIA

Adultos:	0,5 a 1,5%
Recién Nacidos a término:	3,0 a 6,0%

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente ha dado resultados satisfactorios en nuestros laboratorios.
Una buena coloración depende del extendido, este no debe ser muy grueso y se debe evitar la formación de grumos y estrías.
Usar placas preferiblemente nuevas, sin ralladuras y libres de grasa.
El microscopio usado debe cumplir los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.
Para filtrar la solución puede utilizarse un papel de filtro “de paso rápido”.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
El control de calidad en la microscopia de extendidos sanguíneos depende directamente de la formación y experiencia del profesional que validara la calidad de los extendidos, coloración, etc..

BIBLIOGRAFÍA

1.Hematology: Principles and Procedures, Sixth Edition, Brown AB, Lea & Febiger,Philadelphia 1993 p101
2.Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos					
IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR
Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

Microscopia

1.01383 Eosina-azul de metileno en solución según Wright
1.09278 Eosina-azul de metileno según Wright

IVD

Producto sanitario para diagnóstico in vitro

Eosina-azul de metileno según Wright para microscopia

Tinción de frotis sanguíneos y de médula ósea y de material citológico clínico

Principio
El típico color de los núcleos celulares, mayoritariamente rojo púrpura, se basa en la interacción molecular entre eosina y un complejo azur B – ADN.
Ambos colorantes forman el complejo. La intensidad de la coloración depende del contenido de azur B y de la relación entre azur B y eosina amarilla. El resultado de tinción puede ser influido por diferentes factores como el valor del pH de la solución y de la solución tampón, las substancias tampón (amortiguadores), el tiempo de tinción y la fijación.

Material
Frotis de sangre y de médula ósea secados al aire
Material clínico como sedimento urinario, esputo, FNAB (biopsia por aspiración con aguja fina), imprints, soluciones de lavado.

Reactivos
Art. nro. 1.01383 Eosina-azul de metileno en solución según Wright	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. nro. 1.09468 Tabletas tampón según Weise pH 7,2	1 envase (100 tab.)
Art. nro. 1.11374 Tabletas tampón según Weise pH 6,8	1 envase (100 tab.)
Art. nro. 1.09278 Eosina-azul de metileno según Wright	25 g

Preparación
1. Solución tampón
Disolver 1 tableta tampón según Weise* en 1000 ml de agua destilada.
*1.11374 ó 1.09468 en función del resultado de tinción deseado

2. Solución de Wright diluida para tinción manual
Añadir 20 ml de solución tampón y 150 ml de agua destilada a 30 ml de solución de eosina-azul de metileno según Wright.

3. Solución de Wright diluida para tinción en el MIRASTAINER®
Añadir 30 ml de solución tampón y 220 ml de agua destilada a 50 ml de solución de eosina-azul de metileno según Wright.

4. Preparación de la solución de eosina-azul de metileno según Wright a partir de colorante
Disolver 0,25 g de eosina-azul de metileno según Wright en 100 ml de metanol, calentar cuidadosamente en el baño de agua durante 20-30 minutos o hasta que se haya disuelto el colorante, filtrar antes del uso.

Técnica
Frotis secados al aire

Banco de tinción
Solución primaria de Wright	1 min
Añadir solución tampón(1 ml), mezclar, teñir	4 min
Enjuagar con solución tampón	
Secar	

Cubeta de tinción
Solución primaria de Wright	3 min
Solución de Wright diluida	6 min
Lavar con solución tampón	2 x 1 min.
Secar	

Tinción en el MIRASTAINER®
Reactivos	Tiempo	Estación	Dip
Solución primaria de Wright	3 min	2	on
Solución de Wright diluida	6 min	3	on
Solución tampón	1 min	4	on
Agua corriente del grifo (lavar)	2 min	5	on
Secar	3 min	6	-

Resultado
Núcleos	rojo a violeta
Linfocitos	plasma azul
Monocitos	plasma azul grisáceo
Granulocitos	
neutrófilos	gránulos violeta claro
eosinófilos	gránulos rojo ladrillo a pardo rojizo
basófilos	gránulos violeta oscuro a negro
Trombocitos	violeta
eritrocitos	rojizo

Nota técnica
El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.
Para filtrar la solución debe utilizarse un papel de filtro “de paso rápido”.

Preparación de las muestras
Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología.
Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.
Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación/el empleo.

Diagnóstico
Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas.
Deberán emplearse terminologías vigentes.
Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos.

Almacenamiento
El colorante debe almacenarse entre +5°C y +30°C, la solución de tinción entre +15°C y +25°C.
La solución y el colorante pueden usarse hasta la fecha de caducidad indicada.

Estabilidad
Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +5°C y +30°C (colorante), o resp. entre +15°C y +25°C (solución), es utilizable hasta la fecha de caducidad.
Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

Notas sobre el empleo
Solamente para uso profesional.
Para evitar errores, la tinción debería ser realizada por personal especializado.
Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.
Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Protección contra infecciones
Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos
Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos.
Merck, además de aceptar la devolución de productos usados o caducados a través del servicio de retrologística, ofrece también ayuda técnica para soluciones locales de eliminación de residuos.

Reactivos auxiliares
Merck art. nro. 1.04699	Aceite de inmersión	100 ml, 500 ml
Merck art. nro. 1.15577	Aceite de inmersión según DIN ISO 8036-1	500 ml
Merck art. nro. 1.07961	Entellan® Nuevo	500 ml
Merck art. nro. 1.06009	Metanol p.a.	1l, 2,5l

Clasificación de substancias peligrosas
Merck art. nro. 1.01383
Merck art. nro. 1.09278
Tener en cuenta la clasificación de substancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.
La ficha de seguridad de Merck está disponible en Internet y a solicitud.

Componentes principales de los productos
Merck art. nro. 1.01383	
C.I. 52015 +azur	0,8 g/l
C.I. 45380	0,7 g/l
1l =	0,8 kg
contiene CH_3OH	
Merck art. nro. 1.09278	
C.I. 52015 +azur	45,2 %
C.I. 45380	40,5 %

Abril 2004

CE

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Alemania, tel.: +49 6151 72 0

GLUCOTEST®

Dextrosa anhidra

Dextrosa anhidra con sabor a naranja.

Uso
Carga de glucosa para la prueba de tolerancia oral a la glucosa, post-carga y curva de glicemia, en el laboratorio clínico.

Reactivos
GLUCOTEST® Dextrosa anhidra
(ALBOR Ref.: 31001)

Dosis
- Prueba Post Carga:
  - Adultos: 3 sobres (75 g) diluidos en 300 ml de agua. Suministrar en ayunas.
  - Niños menores de 12 años o personas con peso menor de 30 kilos: (estricta orden médica)
  1.75 g por kilo de peso diluido en 250 ml de agua.
- PTOG Gestantes:
  Si se sospecha diabetes gestacional, realizar prueba de tamizaje alrededor de las 24-26 semanas de gestación, administrando 50 g de glucosa y determinar la glicemia a la hora (60 minutos). Si el valor de esta prueba es mayor de 140 mg/dl se considera positivo y NO se debe realizar curva de glicemia.
- Prueba Curva de Glicemia:
  - Adultos y gestantes: 3 sobres (75 g) diluidos en 300 ml de agua. Suministrar en ayunas.
  - Niños menores de 12 años o personas con peso menor de 30 kilos: (estricta orden médica)
  1.75 g por kilo de peso diluido en 250 ml de agua.
  La dosis puede ser variable según criterio y responsabilidad del especialista o por prescripción.

Procedimiento
- Agregar a un vaso con agua, agitando simultáneamente, la cantidad sugerida de **GLUCOTEST® Dextrosa anhidra ALBOR** (100ml de agua por cada sobre de GLUCOTEST®).
- Continúe agitando, hasta disolución completa.
- Administrar vía oral

Advertencia
- Practicar prueba de glicemia en ayunas y si el resultado es igual o mayor a 140 mg/dl, abstenerse de suministrar el GLUCOTEST®.
- Solo en caso de ser solicitado específicamente por el médico, se suministrará la carga de GLUCOTEST® a niños para realizar la curva.
- Disolver el GLUCOTEST® en la cantidad de agua sugerida. Soluciones saturadas pueden influir en la absorción de los azucares.

Estabilidad y almacenamiento
Estable hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta.
Almacenar a temperatura inferior a 30º C, en su envase y empaque original, en lugar seco y protegido de la luz.
No almacenar sobres abiertos.
Mantener fuera del alcance de los niños.

Presentación
Caja por 50 sobres de 25 gramos.

Bibliografía
NARRO ROBLES, José. Diagnóstico y tratamiento en la Práctica Médica. 2ª edición. Ed. El Manual Moderno. 2007. Pág. 127-136.
BARRERA PERDOMO, María del Pilar. Diabetes Mellitus e Hipertensión Arterial. 1ª Ed. Universidad Nacional de Colombia. 2006.
LYNCH, Matthew. Métodos de Laboratorio. 2ª Edición. México, D. F. 1985.

Abbott

REF 11FK10

Bioline™

Dengue IgG/IgM

Rapid test for the detection of IgG and IgM antibodies to Dengue virus
Test rapide de détection des anticorps IgG/IgM anti-dengue
Prueba rápida para la detección de anticuerpos IgG/IgM contra el virus de dengue

ENGLISH

About the test

[Introduction] Dengue viruses, transmitted by *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes, are widely distributed throughout the tropical and subtropical areas of the world. Dengue is an important arthropod-borne viral disease due to its high morbidity and mortality in humans. There are four known distinct serotypes: dengue virus 1, 2, 3 and 4. In children, infection is often sub-clinical or causes a self-limited febrile disease. However, if the patient is reinfected with a different serotype, risk of a more severe disease increases, such as dengue hemorrhagic fever or dengue shock syndrome. NS1 antigen is a highly-conserved glycoprotein that is present at high concentrations in the sera of dengue-infected patients, during the early clinical phase of the disease. NS1 antigen is found in specimens from primary or secondary dengue-infected patients between 1 and 9 days after onset of fever. IgM usually become detectable until 5 to 10 days after the onset of illness in cases of primary dengue infection and until 4 to 5 days after onset of illness in secondary infections. In primary infections, IgG appears by the 14th day and persists for life. In secondary infections, IgG levels rise for 1 - 2 days after the onset of symptoms and an IgM response is induced 20 days after infection.
[Test principle] Bioline™ Dengue IgG/IgM test is designed to simultaneously detect and differentiate IgG and IgM antibodies to dengue virus (Den 1,2,3 and 4) in human serum, plasma. This test also can detect all 4 Dengue serotypes by using a mixture of recombinant Dengue envelope proteins. Both the Mouse monoclonal anti-human IgG & IgM on the membrane and the Dengue virus envelope protein gold colloid will react specifically with IgG & IgM antibody to Dengue virus from human serum or plasma. Bioline™ Dengue IgG/IgM test device has 3 pre-coated lines, "G" (Dengue IgG Test Line), "M" (Dengue IgM Test Line) and "C" (Control Line) on the surface of the device. All three lines in result window are not visible before applying any specimen. The "Control Line" is used for procedural control. Control line should always appear if the test procedure is performed properly and the test reagents of control line are working. A purple "G" and "M" lines will be visible in the result window if there are enough IgG and/or IgM antibodies to Dengue virus in the specimen. If IgG and/or IgM antibodies to Dengue virus are not present in the specimen, there is no color appears in "G" and/or "M". When a specimen is added to the specimen well, Anti-Dengue IgGs and IgMs in the specimen will be captured by the relevant anti-human IgG and or anti-human IgM immobilized in two test lines across the test device. Mouse monoclonal anti-dengue Ab-colloidal gold conjugates will react with dengue virus in virus pad and forms a complex of antibodies-antigen. As this complex migrates along the length of the test device by capillary action, it will react with Anti-Dengue IgGs and IgMs in test lines and generate a colored line.
[Intended use] Bioline™ Dengue IgG/IgM test is a solid phase immunochromatographic assay for the rapid, qualitative and differential detection of IgG and IgM antibodies to dengue virus in human serum or plasma. This test is intended for professional use to aid in the presumptive diagnosis between primary and secondary dengue infection. This test provides only a preliminary test result. Therefore, isolation of virus, antigen detection in fixed tissues, RT-PCR and serological test like haemagglutination-inhibition test, more specific alternative diagnosis method must be used in order to obtain a confirmation of dengue virus infection.

Materials provided and active ingredients of main components

1. The Bioline™ Dengue IgG/IgM test kit contains the following items to perform the assay.
- 25 Test devices with desiccant in individual foil pouches
- Assay diluent (1 x 5 ml/vial)
- 25 Capillary pipettes (5 µl)
- 1 Instructions for use

2. Active ingredients of main components

1 test strip includes:	Assay diluent includes:
- Gold Conjugates: Mouse monoclonal anti-dengue Ab-gold colloid (0.467±0.014 µg), Mouse Ab-gold colloid (0.002±0.001 µg) - Test Line "G": Mouse monoclonal anti-human IgG (0.512±0.154 µg) - Test Line "M": Mouse monoclonal anti-human IgM (0.32±0.10 µg) - Control Line: Goat anti-mouse IgG (0.576±0.173 µg)	- 100 mM Tris Buffer (5 ml) - Proclin 300 (0.05 %) - Sodium azide (0.05 w/v%)

※ Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008:

Product identifier	**Trade name**	Bioline™ Dengue IgG/IgM Assay diluent	
	Hazardous substance	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4- isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H -isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)	
Classification	Skin sensitization Category 1	**Precautionary statements**	
Hazard Pictogram		**Prevention**	P261: Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray P272: Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/ face protection
		Response	P302+P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water P321: Specific treatment P333+P313: If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention P363: Wash contaminated clothing before reuse
Signal Word	Warning		
Hazard Statement	H317: May cause an allergic skin reaction	**Disposal**	P501: Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulation

Kit storage and stability

1. The test device is sensitive to both heat and humidity and must be used and stored properly.
- Store the test kit at between 1 °C and 30 °C. Do not freeze the kit or its components or expose them to high temperatures.
- Perform the test immediately after removing the test device from the foil pouch, to avoid exposure to moisture.

2. Do not use the test kit beyond its expiration date. The shelf life of the kit is as indicated on the outer package.
3. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.

Warnings

1. For *in vitro* diagnostic use only. Do not reuse the test device and kit components.
2. The instructions must be followed exactly to achieve accurate results. Any individual performing an assay with this product must be trained in its use and must be experienced in laboratory procedures.
3. Do not eat or smoke while handling specimens.
4. Wear protective gloves while handling specimens and wash hands thoroughly afterwards.
5. Avoid splashing or aerosol formation of specimen and assay diluent.
6. Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
7. Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials (i.e. specimen applicator, test device) in a biohazard container as if they were infectious waste.
8. Do not mix or interchange different specimens.
9. Care should be taken to avoid contamination of the end of the bottle when dropping assay diluent into a specimen well.
10. The components (test device and assay diluent) in this kit have been quality control tested as standard batch unit. Do not mix components from different lot numbers.
11. Do not drink assay diluent.
12. The assay diluent contains a proprietary anti-microbial agent, sodium azide, which presents nohazard to the user if normal laboratory safety precautions are followed. If contact with assay diluent to the eyes and/or skin, wash affected area with soap and water immediately. If irritation or signs of toxicity occur, seek medical attention.

Specimen collection and storage

1. **[Plasma]** Using venipuncture, draw whole blood into the collection tube (containing anticoagulants including heparin, EDTA and sodium citrate) and then centrifuge the tube to get a plasma specimen.
2. **[Serum]** Using venipuncture, draw whole blood into the collection tube (NOT containing anticoagulant). Leave blood to coagulate for 30 minutes and then centrifuge the tube to get a serum supernatant.
- If plasma or serum specimens are not tested immediately, they must be refrigerated at 2 - 8 °C.
- For storage periods longer than 2 weeks, freezing (below -20 °C) is required. Specimens must be brought to room temperature (15 - 30 °C) prior to use.
- Plasma or serum specimens containing a precipitate may yield inconsistent test results. Use standard laboratory techniques to clarify such specimens prior to testing.

3. **Precaution**
- Repeated frozen-thawed cycle for specimen should be avoided.
- Anticoagulants including heparin, EDTA, and citrate do not affect the test result. Use of other anticoagulants have not been validated. Their use may affect the test result.
- Use a new capillary pipette or pipette tip for each specimen in order to avoid cross-contamination of specimens, which could produce erroneous results.

Test procedure (Refer to figure)

1. Bring all kit components and specimens to reach room temperature (between 15 °C and 30 °C) prior to opening and testing.
2. Remove the test device from foil pouch, and place it on a flat, dry surface. Label the test device with a patient identifier.
3. **[Using a micropipette]** Dispense 5 µl of serum or plasma specimen into the square specimen well.
   OR,
   [Using a capillary pipette] Draw serum or plasma to black line (5 µl) then dispense into the square specimen well.
4. Dispense 4 drops (about 90 - 120 µl) of assay diluent into the round assay diluent well.
5. Interpret test results in 15 - 20 minutes.
   ⚠ **Caution :** Do not read test results after 20 minutes; reading after 20 minutes can yield false results.

Test interpretation (Refer to figure)

- **Negative result:** The presence of only Control Line ("C") in the result window indicates that IgG and IgM antibodies to dengue are not present in the specimen or are present below the detectable levels. Retest in 3 - 5 days if dengue infection is suspected.
- **Positive result**
  ⚠ **Caution :** The presence of any test line, no matter how faint, the result is considered positive.

1) **IgM positive:** The presence of two colored lines ("C" and "M") in the result window, regardless of which line appears first, indicates that the speicmen is positive for IgM antibodies to dengue virus. This suggests a primary dengue infection. Test is positive even if "M" line is faint.
2) **IgG positive:** The presence of two colored lines ("C" and "G") in the result window, regardless of which line appears first, indicates that the speicmen is positive for IgG antibodies to dengue virus. This suggests a secondary or past dengue infection. Test is positive even if "G" line is faint.
3) **IgG and IgM positive:** The presence of three colored lines ("C", "M" and "G") in the result window, regardless of which line appears first, indicates that the speicmen is positive for both IgM and IgG antibodies to dengue virus. This suggests a late primary or early secondary dengue infection. Test is positive even if "M" and/or "G" line(s) are faint.

- **Invalid result:** No Control Line ("C") in the result window means the test is invalid, whether or not the Test Line ("M" and/or "G") is present. The instructions may not have been followed correctly or the test may have been compromised. When an invalid result is obtained, it is recommended that the specimen be retested using a new device.

Test limitations

1. This test detects the presence of antibodies to dengue in the specimen and should not be used as the sole criterion for the diagnosis of Dengue virus infection.
2. In early infections and some secondary infections, detectable levels of IgM antibodies may be low. Some patients may not produce detectable levels of antibody within the first 7 - 10 days after infection. If the test result is negative and clinical symptoms persist, patients should be retested 3 - 4 days after the first specimen.
3. Serological cross reactivity across Flavivirus genus (e.g. West Nile virus, St. Louis Encephalitis virus, Japanese Encephalitis virus, Yellow Fever virus, Zika virus) is common.
4. As with all diagnostic tests, results must be considered with other clinical information available to the physician.
5. If the test result is negative and clinical symptoms persist, additional follow-up testing using other clinical methods is recommended. A negative result does not preclude the possibility of early dengue virus infection.
6. The test procedure, precautions and interpretation of results for this test must be followed strictly when testing.

Internal quality control

The Bioline™ Dengue IgG/IgM test device has "G" and "M" (Test Lines) and "C" (Control Line) marked on the surface of the device. Neither the test lines nor the control line are visible in the result window before applying a specimen. The control line is used for procedural control. The presence of the Control Line shows that the diluent has been applied successfully and that the active ingredients of main components on the strip was still functional, but is not a guarantee that the specimen has been properly applied and does not represent a positive specimen control.

Expected value

Primary dengue is characterized by the presence of detectable IgM 3 - 5 days after the onset of infection. Secondary dengue is characterized by the elevation of specific IgG 1 - 2 days after the onset of infection and in the majority of cases this is generally accompanied by an elevation of IgM.

Performance characteristics

1. Bioline™ Dengue IgG/IgM test kit is designed to have 94.6 % (95 % CI : 88.8 - 97.5 %) of sensitivity and 96.5 % (95 % CI : 93.0 - 98.3 %) of specificity. A total of 312 serum specimens collected from Philippines were tested with the Bioline™ Dengue IgG/IgM in Korea and the specimens were confirmed by ELISA.

		Bioline™ Dengue IgG/IgM		Result (95 % CI)
		Positive	Negative	
Reference assay : ELISA test	Positive	106	6	Sensitivity : 94.6 % (88.8 - 97.5 %)
	Negative	7	193	Specificity : 96.5 % (93.0 - 98.3 %)

Even though our intended performance is as above, the results of individual laboratories may vary from these data because the results can be unique to the population it serves depending upon geographical, patient, dietary, environmental and other factors.
- Highest sensitivity and clinical utility is achieved by considering all results (IgG and IgM) in aggregate versus the reference methods. An individual is considered positive for dengue infection if any of the Test Lines appears. Positive results on Test Lines provide greater confidence in the diagnosis of dengue infection.
- The comparison results of sensitivity of dengue IgG and IgM specimen

Techinque Used	No. of positive Specimens	IgM positive only	IgG positive only	IgG+IgM Both positive	Total IgM positive	Total IgG positive	Negative
Commercial-ELISA	112	30	36	46	76	82	200
Bioline™ Dengue IgG/IgM	106	28	33	45	73	78	193

2. Reproducibility of the Bioline™ Dengue IgG/IgM has been demonstrated using in-house reference panels for within-run, between-run and batch-to-batch studies. All values were identical to reference panel acceptance criteria.
3. The performance of Bioline™ Dengue IgG/IgM kit was evaluated with potential relevant interfering substances. Hemolytic, lipaemic, icteric specimens and those containing rheumatoid factors were investigated. None of the specimens were found to interfere with this test kit.
4. Analytical Sensitivity : the limit of detection ; the smallest amount of the target marker that can be precisely detected ; have been equal or superior to a leading commercial dengue antibody detection rapid test.

Product Disclaimer:
While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the manufacturer and distributor and test results may accordingly be affected by environmental factors and/or user error. The subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the test result.

Warning:
The manufacturers and distributors of this product shall not be liable for any direct, indirect, or consequential losses, liability, claims, costs or damages arising from or related to an incorrect positive or negative diagnosis using this product.

FRANÇAIS

Présentation du test

[Introduction] Les virus de la dengue, transmis par les moustiques *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, sont très répandus dans les régions tropicales et subtropicales. La dengue est une infection virale, transmise par les arthropodes, importante en raison des taux de morbidité et de mortalité élevés qui y sont associés chez l'homme. Il existe quatre sérotypes distincts connus : virus de la dengue 1, 2, 3 et 4. Chez l'enfant, l'infection est souvent subclinique ou entraîne une maladie fébrile qui guérit spontanément. Toutefois, si le patient est infecté une seconde fois avec un sérotype différent, il risque d'être atteint d'une forme plus sévère de la maladie, comme la dengue hémorragique ou la dengue avec syndrome de choc. L'antigène NS1 est une glycoprotéine hautement conservée, présente en concentrations élevées dans le sérum des patients infectés par le virus de la dengue au début de la phase clinique de la maladie. L'antigène NS1 est présent dans les échantillons de patients avec primo-infection ou dengue secondaire entre 1 et 9 jours après l'apparition de la fièvre. Le délai de détection des IgM est habituellement de 5 à 10 jours après la déclaration de la maladie au cours d'une primo-infection et de 4 à 5 jours après la déclaration de la maladie en cas de dengue secondaire. Dans les primo-infections, les IgG apparaissent le 14e jour et persistent toute la vie. En cas de dengue secondaire, les taux d'IgG augmentent pendant 1 à 2 jours après l'apparition des symptômes et une réponse par IgM est induite 20 jours après l'infection.
[Principe du test] Le test Bioline™ Dengue IgG/IgM test est conçu pour détecter simultanément et de manière différentielle les anticorps IgG et IgM anti-dengue (Den 1,2,3 et 4) dans le sérum ou le plasma humain. Il peut également détecter les quatre sérotypes grâce à un mélange de protéines recombinantes de l'enveloppe du virus de la dengue. Les anticorps monoclonaux de souris anti-IgG et IgM humains ainsi que l'or colloïdal des protéines de l'enveloppe du virus de la dengue réagiront de manière spécifique aux anticorps IgG/IgM anti-dengue du sérum ou du plasma humain. La surface du dispositif de test Bioline™ Dengue IgG/IgM comprend trois lignes sur lesquelles des anticorps ont été fixés : « G » (ligne de test de l'anticorps IgG), « M » (ligne de test de l'anticorps IgM) et « C » (ligne de contrôle). Aucune de ces trois lignes n'est visible dans la fenêtre de résultat avant application de l'échantillon. La ligne de contrôle sert au contrôle de la procédure. La ligne de contrôle doit toujours apparaître si la procédure de test a été réalisée correctement et si les réactifs de test de la ligne de contrôle agissent. Deux lignes, une ligne « G » violette et une ligne « M », s'affichent dans la fenêtre de résultat si l'échantillon contient suffisamment d'anticorps IgG et/ou IgM du virus de la dengue. Elles ne s'affichent pas si l'échantillon ne contient pas d'anticorps IgG et/ou IgM du virus de la dengue. Lorsqu'un échantillon est ajouté au puits d'échantillon, les IgG et IgM anti-dengue de l'échantillon sont capturés par les anticorps anti-IgG et/ou anti-IgM humains immobilisés au niveau des deux lignes de test sur le dispositif de test. Les anticorps anti-dengue monoclonaux de la souris conjugués à de l'or colloïdal réagissent au virus de la dengue dans le tampon de virus et forment un complexe d'antigènes-anticorps. Ce complexe migre par capillarité le long du dispositif et réagit aux IgG et IgM dans les lignes de test et génère une ligne colorée.
[Application] Le test Bioline™ Dengue IgG/IgM test est un dosage immunochromatographique en phase solide pour la détection qualitative, rapide et différentielle des anticorps IgG et IgM anti-dengue dans le sérum ou le plasma humain. Il est réservé à un usage professionnel dans le cadre de la différenciation présomptive entre une infection primaire et une infection secondaire. Ce test fournit uniquement un résultat préliminaire. D'autres méthodes de diagnostic plus spécifiques doivent être utilisées pour confirmer l'infection par le virus de la dengue, notamment l'isolation du virus, la détection de l'antigène dans des échantillons de tissus fixés, la RT-PCR et des tests sérologiques tels que le test d'inhibition de l'hémagglutination.

Matériel fourni et principes actifs des principaux composants

1. Le kit de test Bioline™ Dengue IgG/IgM contient les éléments suivants pour la réalisation du test ;
- 25 dispositifs de test avec agent déshydratant emballés dans des pochettes individuelles en aluminium
- Diluant (1 x 5 ml/flacon)
- 25 pipettes capillaires (5 µl)
- 1 mode d'emploi

2. Principes actifs des principaux composants :

1 bandelette de test comprend :	Le diluant du dosage contient :
- Conjugués d'or : anticorps monoclonaux de souris anti-dengue – or colloïdal (0,467±0,014 µg), anticorps de souris – or colloïdal (0,002±0,001 µg) – Ligne de test « G » : anticorps monoclonaux IgG de souris anti-humain (0,512±0,154 µg) – Ligne de test « M » : anticorps monoclonaux IgM de souris anti-humain (0,32±0,10 µg) – Ligne de contrôle : IgG de chèvre anti-souris (0,576±0,173 µg)	- Tampon Tris 100 mM (5 ml) - Proclin 300 (0,05 %) - Azide de sodium (0,05 p/v%)

* Classification selon la Règlementation (CE) N° 1272/2008 :

Identification du produit	**Nom commercial :**	Diluant pour le test Bioline™ Dengue IgG/IgM	
	Substances dangereuses	Proclin 300 (5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [Numéro CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H -isothiazol-3-one [Numéro CE 220-239-6] (3:1), Numéro CAS 55965-84-9)	
Classification	Sensibilisation cutanée ; catégorie 1	**Conseils de prudence**	
Pictogramme de danger		**Prévention**	P261 : Eviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/du visage
		Intervention	P302+P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon P321 : Traitement spécifique P333+P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin P363 : Laver les vêtements contaminés avant réutilisation
Mention d'avertissement	Attention		
Mention de danger	H317 : peut provoquer une allergie cutanée	**Elimination**	P501 : éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales, régionales, nationales ou internationales

Conservation et stabilité du kit

1. Le dispositif de test est sensible à la chaleur et à l'humidité ; il doit être utilisé et stocké correctement.
- Conserver le kit de test entre 1 °C et 30 °C. Ne pas congeler le kit et ses composants ni les exposer à des températures élevées.
- Procéder au test immédiatement après avoir retiré le dispositif de test de l'emballage en aluminium pour éviter de l'exposer à l'humidité.

2. Ne pas utiliser le kit ou ses composants au-delà de la date de péremption.
3. Ne pas utiliser le dispositif si l'emballage est endommagé ou n'est plus étanche.

Avertissements

1. Pour usage diagnostique *in vitro* uniquement. Ne pas réutiliser le dispositif de test et les composants du kit.
2. Les instructions doivent être suivies à la lettre pour obtenir des résultats précis. Toute personne voulant réaliser ce test doit être formée et avoir l'expérience nécessaire en matière de procédures de laboratoire.
3. Ne pas manger ou fumer pendant la manipulation des échantillons.
4. Porter des gants de protection lors de la manipulation des échantillons et se laver soigneusement les mains après.
5. Éviter les projections ou la formation d'aérosol avec les échantillons et le diluant.
6. Nettoyer soigneusement tout déversement à l'aide d'un désinfectant approprié.
7. Décontaminer et jeter tous les échantillons, les kits de réaction et le matériel potentiellement contaminé (c'est-à-dire l'applicateur d'échantillon et le dispositif de test) dans un conteneur pour déchets présentant un danger biologique comme s'il s'agissait de déchets infectieux.
8. Ne pas mélanger ni échanger avec des échantillons différents.
9. Prendre soin d'éviter toute contamination à l'extrémité du flacon lors de l'ajout des gouttes de diluant dans le puits d'échantillon.
10. Les composants de ce kit (dispositif de test et diluant) ont subi un contrôle qualité selon le principe de vérification d'une unité d'un lot standard. Ne pas mélanger les composants présentant des numéros de lots différents.
11. Ne buvez pas le diluant de dosage.
12. Le diluant de dosage contient un agent antimicrobien exclusif, de l'azoture de sodium, qui ne présente aucun danger pour l'utilisateur si les consignes standard de sécurité en laboratoire sont respectées. En cas de contact du diluant de dosage avec les yeux et/ou la peau, lavez immédiatement la zone touchée au savon et à l'eau. En cas d'irritation ou de signes de toxicité, consultez un médecin.

Prélèvement et conservation des échantillons

1. **[Plasma]** Prélever du sang total dans le tube de prélèvement (contenant des anticoagulants, notamment de l'héparine, de l'EDTA ou du citrate de sodium) par ponction veineuse, puis centrifuger le tube pour obtenir un échantillon de plasma.
2. **[Sérum]** Prélever du sang total dans le tube de prélèvement (SANS anticoagulant) par ponction veineuse. Laisser le sang coaguler pendant 30 minutes, puis centrifuger le sang pour obtenir un surnageant sérique.
- Si les échantillons de plasma ou de sérum ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés entre 2 et 8 °C.
- Pour des périodes de stockage supérieures à 2 semaines, la congélation (à une température inférieure à -20 °C) est obligatoire. Les échantillons doivent être amenés à température ambiante (entre 15 et 30 °C) avant utilisation.
- Les échantillons de plasma ou de sérum contenant un précipité peuvent générer des résultats de test incohérents. Appliquer des techniques de laboratoire standard pour clarifier ces échantillons avant de procéder au test.

3. **Précautions**
- Éviter de soumettre les échantillons à des cycles répétés de congélation-décongélation.
- Les anticoagulants, notamment l'héparine, l'EDTA et le citrate, n'ont aucune incidence sur le résultat du test. L'utilisation d'autres anticoagulants n'a pas été validée. Il est possible qu'elle ait une incidence sur le résultat du test.
- Utiliser une nouvelle pipette capillaire ou un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons, qui pourrait entraîner des résultats erronés.

Procédure du test (voir l'illustration)

1. Amener tous les composants du kit et les échantillons à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant d'ouvrir le kit et de procéder au test.
2. Retirer le dispositif de test de l'emballage en aluminium et le placer sur une surface plane et sèche. Apposer une étiquette indiquant l'identifiant du patient sur le dispositif de test. Procéder immédiatement au test pour éviter d'exposer le dispositif de test à l'humidité.
3. **[Avec une micropipette]** Déposer 5 µl d'échantillon de sérum ou de plasma dans le puits d'échantillon carré.
   OU,
   [Avec une pipette capillaire] Prélever du sérum ou du plasma jusqu'à la ligne noire (5 µl) puis le déposer dans le puits d'échantillon carré.
4. Déposer 4 gouttes (environ 90 – 120 µl) de diluant dans le puits de diluant rond.
5. Interpréter les résultats au bout de 15 à 20 minutes.
   ⚠ **Attention:** Ne pas lire les résultats au-delà de 20 minutes ; une lecture intervenant après 20 minutes peut donner des résultats erronés.

Interprétation du test (voir l'illustration)

- **Résultat négatif**: Lorsque seule la ligne de contrôle (« C ») apparaît dans la fenêtre de résultat, cela signifie que les anticorps IgG et IgM dirigés contre le virus de la dengue ne sont pas présents dans l'échantillon ou qu'ils sont présents en quantité inférieure aux niveaux détectables. Renouveler le test après 3 à 5 jours en cas de suspicion d'infection.
- **Résultat positif**
  ⚠ **Attention:** Si la ligne de test est présente, même très pâle, le résultat est considéré comme positif.

1) **Positif aux IgM:** La présence de deux lignes colorées (« C » et « M ») dans la fenêtre de résultat, quelle que soit la ligne qui s'affiche en premier, indique que l'échantillon est positif pour les anticorps IgM dirigés contre le virus de la dengue. Ce résultat est évocateur d'une primo-infection par le virus de la dengue. Le test est positif même si la ligne « M » est pâle.
2) **Positif aux IgG:** La présence de deux lignes colorées (« C » et « G ») dans la fenêtre de résultat, quelle que soit la ligne qui s'affiche en premier, indique que l'échantillon est positif pour les anticorps IgG dirigés contre le virus de la dengue. Ce résultat est évocateur d'une infection secondaire ou antérieure par le virus de la dengue. Le test est positif même si la ligne « G » est pâle.
3) **Positif aux IgG et aux IgM:** La présence de trois lignes colorées (« C », « M » et « G ») dans la fenêtre de résultat, quelle que soit la ligne qui s'affiche en premier, indique que l'échantillon est positif pour les anticorps IgM et IgG dirigés contre le virus de la dengue. Ce résultat est évocateur d'une primo-infection tardive ou d'une infection secondaire débutante par le virus de la dengue. Le test est positif même si la ligne « M » et/ou « G » est pâle.

- **Résultat non valide:** L'absence de ligne de contrôle (« C ») dans la fenêtre de résultat indique que le test n'est pas valide, même si une ligne de test (« M » et/ou « G ») est présente. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test ait été altéré. En cas de résultat non valide, il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

Limites du test

1. Ce test détecte la présence d'anticorps dirigés contre le virus de la dengue dans un échantillon et ne doit pas être utilisé comme seul critère de diagnostic d'une infection par le virus de la dengue.
2. Les taux détectables d'anticorps IgM peuvent être faibles au début de l'infection et dans le cas de certaines infections secondaires. Certains patients peuvent ne pas produire des taux détectables d'anticorps au cours des 7 à 10 premiers jours de l'infection. Si le résultat du test est négatif, mais que les symptômes persistent, tester à nouveau les patients 3 à 4 jours après le prélèvement du premier échantillon.
3. Une réactivité sérologique croisée entre les virus du genre Flavivirus (p. ex. virus du Nil occidental, virus de l'encéphalite de Saint-Louis, virus de l'encéphalite japonaise, virus de la fièvre jaune, virus Zika) est fréquente.
4. Comme tout test de diagnostic, les résultats doivent être étudiés avec les autres informations cliniques à disposition du médecin.
5. Si le résultat du test est négatif et si les symptômes cliniques persistent, des tests de suivi supplémentaires à l'aide d'autres méthodes cliniques sont recommandés. Un résultat négatif n'élimine pas l'éventualité d'une infection précoce par le virus de la dengue.
6. La procédure de test, les précautions et l'interprétation des résultats pour ce test doivent être strictement observées pendant la réalisation du test.

Contrôle qualité interne

Le dispositif de test Bioline™ Dengue IgG/IgM porte les lettres « G » et « M » (lignes de test) et « C » (ligne de contrôle) inscrites sur sa surface. Ni les lignes de test ni la ligne de contrôle ne sont visibles dans la fenêtre de résultat avant l'application d'un échantillon. La ligne de contrôle est utilisée à des fins de contrôle de la procédure. La présence de la ligne de contrôle indique que le diluant a été appliqué correctement et que les principes actifs des composants principaux de la bandelette ont fonctionné, mais elle ne garantit pas que l'échantillon ait été correctement appliqué et n'indique pas un contrôle positif de l'échantillon.

Valeurs attendues

La primo-infection par le virus de la dengue se caractérise par la présence détectable d'anticorps IgM 3 à 5 jours après le début de l'infection. La dengue secondaire se caractérise par une augmentation des anticorps IgG spécifiques 1 à 2 jours après le début de l'infection, hausse accompagnée dans la majorité des cas d'une augmentation du taux d'IgM.

Caractéristiques de performances

1. Le kit de test Bioline™ Dengue IgG/IgM est conçu pour avoir une sensibilité de 94,6 % (IC à 95 % : 88,8 – 97,5 %) et une spécificité de 96,5 % (IC à 95 % : 93,0 - 98,3 %). Au total, 312 échantillons de sérum prélevés aux Philippines ont été analysés à l'aide du test Bioline™ Dengue IgG/IgM en Corée, et les échantillons ont été confirmés par ELISA.

		Bioline™ Dengue IgG/IgM		Résultat (IC à 95 %)
		Positif	Négatif	
Dosage de référence : Test ELISA	Positif	106	6	Sensibilité : 94,6 % (88,8 - 97,5 %)
	Négatif	7	193	Spécificité : 96,5 % (93,0 - 98,3 %)

Bien que les performances attendues soient celles indiquées ci-dessus, les résultats de chaque laboratoire peuvent être différents de ces données, car ils dépendent de la population concernée, notamment en raison de facteurs géographiques, de facteurs relatifs aux patients et au régime alimentaire, de facteurs environnementaux et autres.
- Pour obtenir une sensibilité et une utilité clinique maximales, comparer les résultats ensemble (anticorps IgG et IgM) aux méthodes de référence. Une personne est jugée positive pour l'infection par le virus de la dengue si l'une des lignes de test apparaît. Des résultats positifs sur les lignes de test permettent un diagnostic plus sûr de l'infection par le virus de la dengue.
- Résultats comparatifs de la sensibilité des échantillons pour la détection des IgG et IgM de la dengue

Technique utilisée	Nombre d'échantillons positifs	Positifs uniquement aux IgM	Positifs uniquement aux IgG	Positifs aux IgG et aux IgM	Total positifs aux IgM	Total positifs aux IgG	Négatif
Test ELISA commercialisé	112	30	36	46	76	82	200
Bioline™ Dengue IgG/IgM	106	28	33	45	73	78	193

2. La reproductibilité du test Bioline™ Dengue IgG/IgM a été démontrée à l'aide de panels de référence internes dans le cadre d'études intra-cycle, inter-cycles et inter-lots. Toutes les valeurs étaient identiques aux critères d'acceptation des groupes de référence.
3. Les performances du kit Bioline™ Dengue IgG/IgM ont été évaluées avec des substances potentiellement interférentes pertinentes. Des échantillons hémolytiques, lipémiques et ictériques, ainsi que des échantillons contenant des facteurs rhumatoïdes, ont été étudiés. Aucun de ces échantillons n'a montré d'interférence avec le kit de test.
4. Sensibilité analytique : la limite de détection, quantité la plus faible d'un marqueur cible pouvant être détectée avec précision, est supérieure ou égale à celle d'un test rapide de détection de l'anticorps anti-dengue couramment utilisé et disponible dans le commerce.

Clause de non-responsabilité :
Bien que toutes les précautions soient prises pour assurer le bon fonctionnement et la précision de ce test, il n'est pas utilisé sous le contrôle du fabricant et du distributeur. Le résultat peut être influencé par des facteurs environnementaux et/ou une erreur d'utilisation. Il est fortement recommandé au patient ayant reçu le diagnostic de consulter un médecin pour confirmer le résultat du test.

Attention :
Le fabricant et le distributeur de ce produit ne peuvent, en aucune manière, être tenus responsables des pertes, dommages, réclamations ou coûts, quels qu'ils soient, directs, indirects ou consécutifs, dus ou liés à un diagnostic positif ou négatif erroné établi à l'aide de ce produit.

Bibliography of suggested reading / Bibliographie des lectures suggérée / Bibliografía de lectura recomendada

1. Dengue haemorrhagic fever : Diagnosis, treatment, prevention and control. WHO New Edition 2009
2. Commercial Dengue Rapid Diagnostic Tests for Point-of-Care Application: Recent Evaluations and Future Needs? J.Biomed. and Biotech. Vol. 2012 , 12, 2012.
3. Immunochromatographic Test for the Clinical Evaluation of a Rapid Diagnosis of Dengue Virus Infection. Clin Vaccine Immunol. vol. 5 no. 3 407-409, 1998.
4. Songee L. ranch and Paul N. Levett. Evaluation of four methods for detection of immunogloulin M antibodies to dengue virus. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol 6(4) p 555-557, 1999
5. Jan Groen et al. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue-virus specific immunoglobulin M and G Antibodies. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol 7(6) p 867-871, 2000
6. Shuenn-Jue L. Wu et al. Comparison of two rapid diagnostic assays for detection of immunoglobulin M antibodies to dengue virus. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol 7(1) p 106-110, 2000
7. Kevin R. Porter et al. Evaluation of a commercially available immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assay kit for diagnosing acute dengue infections. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol 6(5) p 741-744, 1999
8. Ludolfs D et al. Serological differentiation of infections with dengue virus serotypes 1 to 4 by using recombinant antigens. J Clin Microbiol 40(11) p 4317-4320, 2002
9. Bangti Zhao et al. Cloning full-length dengue type 4 viral DNA sequences: analysis of genes coding for structural proteins. Viriol 155, p 77-88, 1986.

Date issued : 2020. 02
11FK10-03-A0

CE
EC REP

Authorized Representative
MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, 66386 St. Ingbert, Germany
Phone : +49 6894 581020, Fax : +49 6894 581021

Abbott Diagnostics Korea Inc.
65, Borahagal-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, 17099,
Republic of Korea
Tel : 82-31-899-2800 | Fax : 82-31-899-2840
abbott.com/poct

© 2020 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

ESPAÑOL

Acerca de la prueba

[Introducción] Los virus del dengue, que son transmitidos por los mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* se distribuyen ampliamente por todas las regiones de los trópicos y subtrópicos del mundo. El dengue es una enfermedad vírica transmitida por artrópodos de importancia debido a su alta morbilidad y mortalidad en los seres humanos. Se conocen cuatro serotipos distintos: virus del dengue 1, 2, 3 y 4. En los niños, la infección es, con frecuencia, subclínica o causa una enfermedad febril autolimitada. Sin embargo, si el paciente se infecta de nuevo con un serotipo diferente, aumenta el riesgo de que se produzca una enfermedad más grave, como la fiebre hemorrágica por dengue o el síndrome de shock por dengue. El antígeno NS1 es una glicoproteína muy bien conservada, presente en altas concentraciones en el suero de pacientes infectados con el dengue, durante la fase clínica inicial de la enfermedad. El antígeno NS1 se encuentra en las muestras de pacientes infectados con dengue primario o secundario entre 1 y 9 días después del inicio de la fiebre. La IgM generalmente se puede detectar hasta 5 a 10 días después del inicio de la enfermedad en casos de primoinfección por dengue y hasta 4 a 5 días después del inicio de la enfermedad en infecciones secundarias. En las primoinfecciones, la IgG aparece el día 14 y persiste de por vida. En las infecciones secundarias, aumentan los niveles de IgG durante 1 a 2 días después del inicio de los síntomas y se origina la respuesta de IgM a los 20 días de la infección.

[Principio] La prueba Bioline™ Dengue IgG/IgM se ha diseñado para detectar y diferenciar simultáneamente los anticuerpos IgG e IgM contra el virus del dengue (1, 2, 3 y 4) en suero y plasma de origen humano. Esta prueba también detecta los 4 serotipos del dengue empleando una mezcla de proteínas de la envoltura del dengue recombinantes. Tanto los anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgG y anti-IgM humanos de la membrane como el conjugado de oro coloidal de la proteína de la envoltura del virus del dengue reaccionarán específicamente con los anticuerpos IgG e IgM contra el virus del dengue del suero o plasma de origen humano. El dispositivo de prueba Bioline™ Dengue IgG/IgM cuenta con 3 líneas previamente recubiertas, "G" (línea de prueba de IgG contra el dengue), "M" (línea de prueba de IgM contra el dengue) y "C" (línea de control) en la superficie del dispositivo. Estas tres líneas de la ventana de resultados no son visibles antes de aplicar la muestra. La "línea de control" se emplea para controlar el procedimiento. La línea de control debe aparecer siempre si se ha realizado correctamente el procedimiento del análisis y si los reactivos de la prueba de la línea de control funcionan. Las líneas "G" y "M" de color morado se verán en la ventana de resultados si hay suficientes anticuerpos IgG y/o IgM contra el virus del dengue en la muestra. Si los anticuerpos IgG y/o IgM contra el virus del dengue no están presentes en la muestra, no se mostrará ningún color en las líneas "G" y/o "M". Cuando se añade una muestra al pocillo para muestras, los anticuerpos IgG e IgM contra el dengue de la muestra serán capturados por los correspondientes anticuerpos anti-IgG y/o anti-IgM humanos inmovilizados en dos líneas de prueba del dispositivo de prueba. Los conjugados de oro coloidal para detección de anticuerpo monoclonal de ratón anti-dengue reaccionarán con el virus del dengue en la almohadilla de virus para formar un complejo de anticuerpos-antígeno. A medida que este complejo se vaya desplazando a través del dispositivo de prueba por capilaridad, reaccionará con los anticuerpos IgG e IgM contra el dengue en las líneas de prueba y dará lugar a una línea con color.

[Uso previsto] La prueba Bioline™ Dengue IgG/IgM de detección rápida es un inmunoanálisis cromatográfico de fase sólida para la detección rápida, cualitativa y diferencial de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del dengue en suero o plasma de origen humano. Esta prueba se ha diseñado para uso profesional como ayuda en el diagnóstico provisional de primoinfección y sobreinfección por dengue. Esta prueba tan solo proporciona resultados preliminares. Por tanto, debe usarse el aislamiento del virus, la detección de antígenos en tejidos fijados, la RT-PCR y la pruebas serológicas como la prueba de inhibición de hemaglutinación, o un método diagnóstico alternativo más específico, para obtener confirmación de infección por virus del dengue.

Materiales suministrados y principios activos de los principales componentes

1. El kit Bioline™ Dengue IgG/IgM contiene los siguientes elementos para llevar a cabo la prueba.
- 25 Dispositivos de prueba en bolsas individuales con un disecante
- Diluyente del ensayo (1 x 5 ml/vial)
- 25 pipeta capilar (5 µl)
- 1 Instrucciones de uso

2. Ingredientes activos del componente principal

1 tira de prueba incluye:	Diluyente del ensayo incluye:
- Conjugado de oro: Ab antidengue monoclonal de ratón conjugado con coloide de oro (0,467±0,014 µg), Ab antirratón conjugado con coloide de oro (0,002±0,001 µg) - Línea de prueba "G": IgG murina monoclonal antihumana (0,512±0,154 µg) - Línea de prueba "M": IgM murina monoclonal antihumana (0,32±0,10 µg) - Línea de control: IgG caprina antirratón (0,576±0,173 µg)	- tampón Tris de 100mM (5 ml) - Proclin 300 (0,05 %) - acida sódica (0,05 w/v%)

※ Clasificación según la normativa (CE) n.º 1272/2008:

Identificador del producto	**Nombre comercial**	Bioline™ Dengue IgG/IgM Diluyente del ensayo	
	Sustancia peligrosa	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4- isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H -isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)	
Clasificación	Sensibilización cutánea Categoría1	**Consejos de prudencia**	
Pictograma de riesgo		**Prevención**	P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P272: Las prendas de trabajo contaminadas no deben sacarse del lugar de trabajo P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
Palabra de advertencia	Atención	**Respuesta**	P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes P321: Se necesita un tratamiento específico P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médicoP363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas
Indicación de peligro	H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel	**Eliminación**	P501: Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local, regional, nacional o internacional

Conservación y estabilidad del kit

1. El dispositivo de prueba es sensible al calor y a la humedad, y debe usarse y conservarse adecuadamente.
- Almacene el kit de análisis a entre 1 °C y 30 °C. No congele el kit ni sus componentes y no los exponga a altas temperaturas.
- Realice la prueba inmediatamente después de extraer el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio para evitar la exposición a la humedad.
2. No utilice el kit de prueba después de su fecha de caducidad. La vida útil del kit se indica en el exterior del envase.
3. No utilice el kit de prueba si la bolsa está dañada o el sello está roto.

Advertencias

1. Solo para uso diagnóstico *in vitro*. No reutilice el dispositivo de prueba ni los componentes del kit.
2. Deben seguirse las instrucciones de forma exacta para obtener unos resultados precisos. La persona encargada de realizar el ensayo con este producto deberá conocer su funcionamiento y poseer experiencia en técnicas de laboratorio.
3. No coma ni fume mientras manipula las muestras.
4. Utilice guantes de protección cuando manipule muestras y lávese bien las manos después.
5. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles de la muestra y el diluyente del ensayo.
6. Limpie con cuidado los derrames utilizando un desinfectante apropiado.
7. Descontamine y deseche todas las muestras, kits de reactivos y materiales potencialmente contaminados (como el aplicador de la muestra o el dispositivo de prueba) en un contenedor de residuos biológicos peligrosos, como si fueran residuos infecciosos.
8. No mezcle ni intercambie muestras distintas.
9. Hay que tener cuidado para evitar la contaminación en el extremo del frasco al verter diluyente del ensayo en un pocillo para muestras.
10. Los componentes (dispositivo de prueba y diluyente del ensayo) de este kit han pasado por un control de calidad como unidad de lotes estándar. No combine componentes procedentes de diferentes números de lote.
11. No beba el diluyente del ensayo.
12. El diluyente del ensayo contiene un agente antimicrobiano patentado, azida sódica, que no presenta ningún riesgo para el usuario si se siguen las precauciones de seguridad normales del laboratorio. Si los ojos o la piel entran en contacto con el diluyente del ensayo, lave inmediatamente el área afectada con agua y jabón. Si se produce irritación o signos de toxicidad, busque atención médica.

Recogida y conservación de la muestra

1. **[Plasma]** Cuando se use la venopunción, recoja la sangre completa en el tubo de recogida (con anticoagulantes que incluyan heparina, EDTA y citrato sódico) y centrifugue el tubo para obtener una muestra de plasma.
2. **[Suero]** Cuando se use la venopunción, recoja la sangre completa en el tubo de recogida (SIN anticoagulante). Deje coagular la sangre durante 30 minutos y centrifugue el tubo para obtener una muestro de suero del sobrenadante.
- Si las muestras de plasma o suero no se analizan de inmediato, deben refrigerarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.
- Para periodos de conservacion superiores a dos semanas (por debajo de -20 °C), es necesario congelar las muestras. Se debe dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente (15 °C - 30 °C) antes de su uso.
- Las muestras de suero o plasma que contienen un precipitado pueden producir resultados inconsistentes. Utilice técnicas de laboratorio estándar para aclarar tales muestras antes de la prueba.

3. **Precauciones**
- Se debe evitar la repetición de ciclos de congelación-descongelación de las muestras.
- Los anticoagulantes que contienen heparina, EDTA y citrato no afectan al resultado de la prueba. El uso de otros anticoagulantes no ha sido validado. Su uso puede afectar el resultado de la prueba.
- Utilice un nuevo pipeta capilar o punta de pipeta desechable para cada muestra, con el fin de evitar la contaminación cruzada de las muestras, lo que podría producir resultados erróneos.

Procedimiento de la prueba (Consulte la figura)

1. Deje que los todos los componentes del kit y las muestras alcancen la temperatura ambiente (entre 15 y 30 °C) antes de abrir y realizar la prueba.
2. Saque el dispositivo de prueba de la bolsa y colóquelo en una superficie plana y seca. Etiquete el dispositivo de prueba con un identificador del paciente.
3. **[Con una micropipeta]** Vierta 5 µl de muestra de suero o plasma en el pocillo para muestras cuadrado.
O,
[Con una pipeta capilar] Recoja la muestra de plasma o suero en la línea negra (5 µl) y dispénsela en el pocillo para muestras cuadrado.
4. Añada 4 gotas (entre 90 y 120 µl) del diluyente del ensayo al pocillo redondo para el diluyente del ensayo.
5. Interprete los resultados de la prueba entre 15 y 20 minutos después.
⚠ **Atención:** no interprete los resultados de la prueba después de que hayan transcurrido 20 minutos; la interpretación después de 20 minutos puede producir falsos resultados.

Interpretación de la prueba (consulte la figura)

- **Resultado negativo:** La presencia solo de la línea de control ("C") en la ventana de resultados indica que los anticuerpos IgG e IgM contra el dengue no están presentes en la muestra o están presentes por debajo de los niveles detectables. Vuelva a analizar la muestra transcurridos de 3 a 5 días si se sospecha que existe infección por dengue.
- **Resultado positivo**
⚠ **Atención:** La presencia de cualquier línea de prueba, aunque sea de un color débil, indica que el resultado es positivo.

1) **Positivo IgM:** La presencia de dos líneas de color ("C" y "M") en la ventana de resultados, independientemente de cuál aparezca en primer lugar, indica que la muestra es positiva para anticuerpos IgM contra el dengue. Esto sugiere una primoinfección por dengue. La prueba es positiva incluso aunque la línea "M" sea débil.
2) **Positivo IgG:** La presencia de dos líneas de color ("C" y "G") en la ventana de resultados independientemente de cuál aparezca en primer lugar, indica que la muestra es positiva para anticuerpos IgG contra el dengue. Esto sugiere una infección por dengue secundaria o pasada. La prueba es positiva incluso aunque la línea "G" sea débil.
3) **Positivo IgG e IgM:** La presencia de tres líneas de color ("C", "M" y "G") en la ventana de resultados, independientemente de cuál aparezca en primer lugar, indica que la muestra es positiva para ambos anticuerpos IgM e IgG contra el dengue, con independencia de qué banda aparezca primero. Esto sugiere una primoinfección tardía o una infección secundaria temprana por dengue. La prueba es positiva incluso aunque las líneas "M" y/o "G" sean débiles.

- **Resultado no válido:** Si no hay línea de control ("C") en la ventana de resultados significa que la prueba no es válida, esté o no presente la línea de prueba ("M" y/o "G"). Es posible que no se hayan seguido las instrucciones correctamente o que la prueba se haya visto comprometida. Cuando se obtenga un resultado no válido, se recomienda volver a analizar la muestra usando un nuevo dispositivo.

Limitaciones de la prueba

1. Esta prueba detecta la presencia de anticuerpos contra el dengue en la muestra y no se debe utilizar como único criterio para el diagnóstico de la infección por virus del dengue.
2. En fases tempranas de la infección y en algunas sobreinfecciones, los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Algunos pacientes pueden no producir niveles detectables de anticuerpos en los primeros 7 - 10 días tras la infección. Si continúan los síntomas clínicos, se debe volver a realizar la prueba a los pacientes en 3 - 4 días con la primera muestra.
3. Es común la reactividad cruzada serológica con el género Flavivirus (p. ej., virus del Nilo Occidental, virus de la encefalitis de San Luis, virus de la encefalitis japonesa, virus de la fiebre amarilla, virus Zika).
4. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, los resultados se deben considerar teniendo en cuenta otra información clínica disponible para el médico.
5. Si el resultado de la prueba es negativo pero los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar un análisis adicional con otros métodos clínicos. Un resultado negativo no descarta la posibilidad de infección temprana por virus del dengue.
6. Durante la prueba se deben seguir escrupulosamente las instrucciones sobre el procedimiento de la prueba y la interpretación de los resultados, así como las precauciones.

Control de calidad interno

La prueba Bioline™ Dengue IgG/IgM tiene una "G" y una "M" (líneas de prueba) y una "C" (línea de control) marcadas en la superficie del dispositivo. Las líneas de prueba y la línea de control de la ventana de resultados no son visibles si no se aplica ninguna muestra. Las líneas de control se usan como controles de procedimiento. La presencia de la línea de control muestra que el diluyente se ha aplicado correctamente y que los principios activos de los principales componentes de la tira funcionan, pero no es una garantía de que la muestra se haya aplicado adecuadamente y no representa un control positivo de la muestra.

Valores esperados

El dengue primario se caracteriza por la presencia de anticuerpos IgM detectables entre 3 y 5 días tras el comienzo de la infección. El dengue secundario se caracteriza por niveles elevados de anticuerpos IgG específicos entre 1 y 2 días tras el comienzo de la infección y, en la mayoría de los casos, se acompaña generalmente de niveles elevados de anticuerpos IgM.

Características de rendimiento

1. El kit de análisis Bioline™ Dengue IgG/IgM se ha diseñado para tener una sensibilidad del 94,6 % (IC del 95 %: 88,8 - 97,5 %) y una especificidad del 96,5 % (IC del 95 %: 93,0 - 98,3 %). En Corea, se analizaron con Bioline™ Dengue IgG/IgM un total de 312 muestras de suero recogidas en Filipinas, y las muestras se confirmaron mediante ELISA.

		Bioline™ Dengue IgG/IgM		Resultado (IC del 95 %)
		Positivo	Negativo	
Ensayo de referencia : prueba ELISA	Positivo	106	6	Sensibilidad: 94,6 % (88,8 - 97,5 %)
	Negativo	7	193	Especificidad: 96,5 % (93,0 - 98,3 %)

Aunque el rendimiento pretendido es el anterior, los resultados de los laboratorios individuales pueden ser diferentes a estos datos, ya que pueden ser exclusivos de la población atendida en función del área geográfica, el paciente, la dieta, factores ambientales y otros.
- La máxima sensibilidad y utilidad clínica se logran al considerar los dos resultados (IgG e IgM) en conjunto frente a los métodos de referencia. Se considera que un individuo ha dado positivo en infección por dengue si aparece la línea de prueba. Los resultados positivos en la línea de prueba proporcionan una mayor confianza en el diagnóstico de la infección por dengue.
- Los resultados de la comparación de la sensibilidad de dengue IgG e IgM

Técnica empleada	N.º de muestras positivas	Solo positivo para IgM	Solo positivo para IgG	Positivo para IgG+IgM	Positivos totales para IgM	Positivos totales para IgG	Negativo
Análisis comercial ELISA	112	30	36	46	76	82	200
Bioline™ Dengue IgG/IgM	106	28	33	45	73	78	193

2. La reproducibilidad de Bioline™ Dengue IgG/IgM ha sido demostrada mediante estudios intraensayo, interensayo y lote a lote utilizando paneles de referencia internos. Todos los valores fueron idénticos a los criterios de aceptación de los paneles de referencia.
3. Para evaluar las interferencias del kit rápido Bioline™ Dengue IgG/IgM con muestras con sustancias interferentes pertinentes conocidas, se investigaron las muestras hemolizadas, las muestras que contienen factores reumatoides y las muestras lipidémicas o ictéricas. En estos estudios, las muestras no interfirieron con este kit de prueba.
4. Sensibilidad analítica : el límite de detección; la menor cantidad del marcador objetivo que se pueda detectar con precisión; que haya sido igual o superior a una prueba rápida comercial importante de detección de anticuerpos del dengue.

Exención de responsabilidad del producto:
Si bien se han tomado todas las precauciones posibles para garantizar la capacidad y la precisión diagnósticas de este producto, este se utiliza fuera del control del fabricante y del distribuidor, y en consecuencia puede verse afectado por factores ambientales y/o un error del usuario. La persona que se someta a este análisis deberá consultar a un médico para obtener una confirmación adicional del resultado de la prueba.

Advertencia:
Los fabricantes y distribuidores de este producto no son responsables de ninguna pérdida, responsabilidad, reclamación, costo o daño directo o indirecto o derivado que surja o esté relacionado con un diagnóstico incorrecto, tanto positivo como negativo, al usar este producto.

Glossary of symbols / Glossaire des symboles / Glosario de símbolos

Temperature limitation
Limitation de température
Limitaciones de temperatura

Lot Number
Numéro de lot
Número de lote

Manufacturer
Fabricant
Fabricante

Use By
Date de péremption
Fecha de caducidad
YYYY.MM.DD

Consult instructions for use
Attention, voir mode d'emploi
Atención, ver Instrucciones de uso

Biological Risks
Risques biologiques
Riesgos biológicos

For *in vitro* diagnostic use only
Pour diagnostic *in vitro* uniquement
Solo para uso de diagnóstico *in vitro*

Catalog Number
Référence catalogue
Número de catálogo

Date of manufacture
Date de fabrication
Fecha de fabricación

Contains sufficient for X tests
Contenu suffisant pour X tests
Contenido suficiente para X pruebas

Keep away from sunlight
Conserver à l'abri de la lumière du soleil
Manténgase fuera de la luz del sol

Do not use if package is damaged
Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
No utilizar si el envase está dañado

Do not reuse
Ne pas réutiliser
No reutilizar

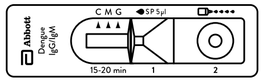
Authorized Representative
Représentant autorisé
Representante autorizado

Keep dry
Garder au sec
Manténgase seco

Caution
Attention
Atención

CE marking according to IVD Medical Devices Directive 98/79/EC
Marquage CE conforme à la directive européenne sur les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* 98/79/CE
Marcado CE según la Directiva sobre dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* 98/79/CE

TEST PROCEDURE / PROCÉDURE DE TEST / PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA



SP **5 µl** : 5 µl of serum or plasma / 5 µl de sérum ou de plasma / 5 µl de suero o plasma

: Assay diluent 4 drops / 4 gouttes de diluant de dosage / 4 gotas de diluyente del análisis

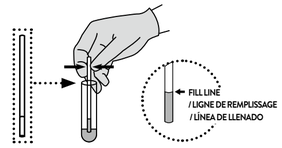
I. Using a capillary pipette / Avec une pipette capillaire / Con una pipeta capilar

Specimen collection / Prélèvement des échantillons / Obtención de la muestra

EN Pressing a capillary pipette lightly with finger tip, take the specimen up to fill line.

FR En pressant légèrement une pipette capillaire, prélever l'échantillon jusqu'à la ligne de remplissage.

ES Presione ligeramente una pipeta capilar con la punta del dedo para tomar la muestra hasta la línea de llenado.

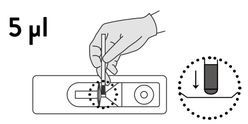


1

EN Dispense **5 µl** of **serum or plasma** into the square speicmen well.

FR Déposer **5 µl** de **sérum ou de plasma** dans le puits d'échantillon carré.

ES Vierta **5 µl** de **suero o plasma** en el pocillo de muestra cuadrado.

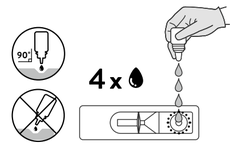


2

EN **Immediately (within 20 seconds)**
Dispense **4 drops** of assay diluent into the round assay diluent well.

FR **Immédiatement (dans les 20 secondes)**
Déposer **4 gouttes** de diluant dans le puits de diluant rond.

ES **Inmediatamente (en un plazo de 20 segundos)**
Añada **4 gotas** del diluyente del ensayo al pocillo redondo para el diluyente del ensayo.



3

EN Interpret test results in 15 - 20 minutes.

FR Interpréter les résultats au bout de 15 à 20 minutes.

ES Interprete los resultados de la prueba entre 15 y 20 minutos después.



EN ⚠ **Caution:** Do not read test results after 20 minutes. Reading test results too late can yield false results.

FR ⚠ **Attention :** Ne pas attendre plus de 20 minutes pour lire les résultats. Une lecture tardive des résultats de test peut donner des résultats erronés.

ES ⚠ **Atención :** No interprete los resultados de la prueba después de 20 minutos. Si lee los resultados muy tarde, estos pueden ser falsos.

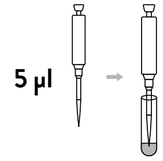
II. Using a micropipette / Avec une micropipette / Con una micropipeta

Specimen collection / Prélèvement des échantillons / Obtención de la muestra

EN Take the specimen of 5 µl using a micropipette.

FR Prélever l'échantillon de 5 µl à l'aide d'une micropipette.

ES Tome 5 µl de muestra con una micropipeta.

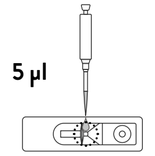


1

EN Dispense **5 µl** of **serum or plasma** into the square speicmen well.

FR Déposer **5 µl** de **sérum ou de plasma** dans le puits d'échantillon carré.

ES Vierta **5 µl** de **suero o plasma** en el pocillo de muestra cuadrado.

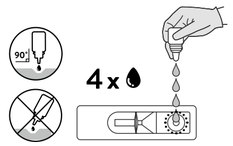


2

EN **Immediately (within 20 seconds)**
Dispense **4 drops** of assay diluent into the round assay diluent well.

FR **Immédiatement (dans les 20 secondes)**
Déposer **4 gouttes** de diluant dans le puits de diluant rond.

ES **Inmediatamente (en un plazo de 20 segundos)**
Añada **4 gotas** del diluyente del ensayo al pocillo redondo para el diluyente del ensayo.



3

EN Interpret test results in 15 - 20 minutes.

FR Interpréter les résultats au bout de 15 à 20 minutes.

ES Interprete los resultados de la prueba entre 15 y 20 minutos después.



EN ⚠ **Caution:** Do not read test results after 20 minutes. Reading test results too late can yield false results.

FR ⚠ **Attention :** Ne pas attendre plus de 20 minutes pour lire les résultats. Une lecture tardive des résultats de test peut donner des résultats erronés.

ES ⚠ **Atención :** No interprete los resultados de la prueba después de 20 minutos. Si lee los resultados muy tarde, estos pueden ser falsos.

INTERPRETATION / INTERPRÉTATION / INTERPRETACIÓN

NEGATIVE / NÉGATIF / NEGATIVO

No dengue Infection / Infection autre que la dengue / No hay infección por dengue

EN Only Control Line ("C") in the result window.

FR Une ligne de contrôle (« C ») unique dans la fenêtre de résultat.

ES Una línea de control ("C") en la ventana de resultados.

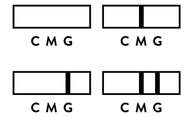


INVALID / NON VALIDE / NO VÁLIDO

EN
- No Control Line ("C") in the result window.
- It is recommended that the specimen be retested using a new device.

FR
- Aucune ligne de contrôle (« C ») dans la fenêtre de résultat.
- Il est recommandé d'analyser à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif.

ES
- No hay línea de control ("C") en la ventana de resultados.
- Se recomienda volver a analizar la muestra usando un nuevo dispositivo.



POSITIVE / POSITIF / POSITIVO

EN ⚠ **Caution:** The presence of any test line, no matter how faint, the result is considered positive.

FR ⚠ **Attention:** si la ligne de test est présente, même très pâle, le résultat est considéré comme positif.

ES ⚠ **Atención:** La presencia de cualquier línea de prueba, aunque sea de un color débil, indica que el resultado es positivo.

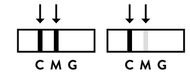
[IgM positive / Positif aux IgM / Positivo IgM]

Primary dengue infection / Primo-infection de la dengue / Primoinfección por dengue

EN
- Two Pink lines "C" and "M" in the result window.
- Test is positive even if "M" line is weak.

FR
- Deux lignes colorées, « C » et « M », dans la fenêtre de résultat.
- Le test est positif même si la ligne « M » est peu marquée.

ES
- Dos líneas rosas "C" y "M" en la ventana de resultados.
- Es positivo incluso si la línea "M" aparece más tenue.



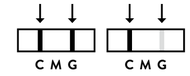
[IgG positive / Positif aux IgG / Positivo IgG]

Secondary or past dengue infection / Infection secondaire ou passée / Sobreinfección por dengue ya pasado

EN
- Two Pink lines "C" and "G" in the result window.
- Test is positive even if "G" line is weak.

FR
- Deux lignes colorées, « C » et « G », dans la fenêtre de résultat.
- Le test est positif même si la ligne « G » est peu marquée.

ES
- Dos líneas rosas "C" y "G" en la ventana de resultados.
- Es positivo incluso si la línea "G" aparece más tenue.



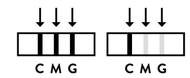
[IgG and IgM Positive / Positif aux IgG et aux IgM / Positivo IgG e IgM]

Late primary or early secondary dengue infection / Primo-infection tardive ou infection secondaire précoce / primoinfección tardía o sobreinfección temprana por dengue

EN
- Three pink lines "C", "M" and "G" in the result window.
- Test is positive even if "M" and/or "G" line(s) are faint.

FR
- Trois lignes colorées, « C », « M » et « G », dans la fenêtre de résultat.
- Le test est positif même si la ligne « M » et/ou « G » est pâle.

ES
- Tres líneas rosas "C", "M" y "G" en la ventana de resultados.
- Es positivo incluso si las líneas "M" y/o "G" son débiles.



COLORACIÓN BK

Juego de soluciones para la coloración de micobacterias según Ziehl-Neelsen para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos de coloración B.K. se utilizan para teñir frotis preparados a partir de muestras y cultivos que se sospecha que contienen micobacterias, para el diagnóstico de sospecha precoz de infección micobacteriana y la caracterización de aislados bacterianos.

PRINCIPIO

La coloración de Ziehl-Neelsen es una técnica de coloración diferencial que se basa en que las paredes celulares de ciertos parásitos y bacterias contienen ácidos grasos (ácidos micólicos) de cadena larga (50 a 90 átomos de carbono) que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la coloración con colorantes básicos. Las micobacterias absorben los colorantes sólo muy lentamente debido a la elevada proporción de ceras y lípidos en la pared celular. Para acelerar la absorción del colorante fucsina y así la formación del complejo micolatofucsina en la pared celular, se calienta la solución de fucsina fenicada aplicada sobre el preparado normalmente hasta formación de vapores. Una vez las micobacterias han absorbido el colorante, difícilmente lo ceden a pesar del tratamiento con solución decolorante Alcohol-Acido. Por esto se denominan Bacilos alcohol ácido resistentes o BAAR y aparecen en el preparado microscópico teñidas de rojo, mientras que todos los microorganismos no resistentes a los ácidos se tiñen de acuerdo con la contratinción.

CONTENIDOS

R 1 **FUCSINA FENICADA B.K**. - Listo para su uso
Fucsina Básica, Fenol, Alcohol Etílico al 96%,
Agua Desmineralizada tipo II

R 2 **ALCOHOL ACIDO B.K.-** Listo para su uso
Ácido Nítrico, Alcohol Etílico al 96%,

R 3 **AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER**
- Listo para su uso.
Azul de Metileno, Alcohol Etilico al 96%, Agua desmineralizada tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 FUCSINA FENICADA B.K. y la solución R3 AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R2 ALCOHOL ÁCIDO B.K. es inflamable, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de coloración
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Esputos, biopsias por aspiración con aguja fina, líquidos de lavados, pus, exudados, pus, material de cultivos líquidos y sólidos.
Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme. Dejar que el frotis se seque al aire.

Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la coloración.

Nota: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una coloración atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA FENICADA B.K.
2. Calentar por 5 minutos suavemente (no dejar hervir) hasta obtener vapores renovando el colorante a medida que se evapore.
3. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
4. Decolorar con ALCOHOL ÁCIDO B.K. hasta que la solución de lavada salga incolora.
5. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
6. Cubrir la preparación con AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER por un (1) minuto.
7. Eliminar el exceso y dejar secar al aire.
8. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de coloración, decoloración y lavado.

RESULTADOS PREVISTOS

Micobacterias alcohol-ácido resistentes	**Rojas**
Otros gérmenes o células y fondo	**Azules**

Un hallazgo positivo significa "**presencia de bacilos Alcohol ácido resistentes**" y un hallazgo negativo significa "**ausencia de bacilos alcohol ácido resistentes**". No se puede diferenciar si se trata de micobacterias de la tuberculosis o de otras micobacterias, tampoco resulta posible verificar si se trata de bacterias activas o muertas. De encontrarse micobacterias, deberían realizarse análisis ulteriores en un laboratorio especial.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
Los controles pueden realizarse con pueden realizarse con bacilos alcohol ácido resistentes

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Algunas drogas utilizadas en el tratamiento de la tuberculosis, hacen perder la ácido-resistencia de los bacilos, observándose esta característica de las cepas sensibles a la isoniazida y a la alfa etiltioisonicotinamida (ethionamida).
- La reacción de coloración de Ziehl-Neelsen se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la coloración de Ziehl-Neelsen de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

Abbott

Bioline™

HCV

Anti-HCV Test
Test de détection des anticorps anti-VHC
Prueba de VHC
Teste anti-VHC

REF 02FK10/02FK16/02FK17

ENGLISH

About the test

[Introduction] Hepatitis C virus (HCV) is recognized as a major agent of chronic hepatitis, transfusion acquired non-A, non-B hepatitis and liver disease throughout the world. HCV is an enveloped positive-sense, single-stranded RNA virus. Testing for HCV infection begins serologic testing with either a rapid or a laboratory-conducted assay for HCV antibody in blood. A reactive result indicates presumptive HCV infection. When to confirm the current HCV infection it is recommended nucleic acid testing (NAT) for the detection of HCV RNA be performed following HCV antibody reactive test result. Abbott Diagnostics Korea has constructed HCV genes for the expression of recombinant antigens in bacterium systems such as *E. coli* focused on structural and non-structural immunogenic regions of the HCV-encoded polyprotein. The major immunogenic antigens of HCV genome which have been reported as core, NS3, NS4 and NS5 regions of HCV genome, which are known to be highly immunodominant. For detection of HCV infection, these recombinant proteins were used as capture materials in this microbeads immunochromatographic test. Improving on the first generation HCV serologic antibody test using a single recombinant antigen, recombinant proteins with multiple antigens have been used to minimize non-specific cross-reactivity and to increase the sensitivity in this assay.

[Test principle] The Bioline™ HCV test contains a nitrocellulose membrane strip, which is pre-coated with recombinant HCV capture antigen (core, NS3, NS4 and NS5) in the test region (T). The protein A-colloid gold conjugate and the specimen moves along the membrane chromatographically to the test region. There the antigen-antibody protein A gold particle complex binds in a visible line with high degree of sensitivity and high specificity. This test device has letter "T" and "C" representing "Test Line" and "Control Line" on the surface of the case. Both the test line and control line in result window are not visible before applying the specimen. The control line is a procedural control. The control line should always appear if the test procedure is performed properly and the reagents in the control line are working.

[Intended use] Bioline™ HCV is an *in vitro* immunochromatographic, rapid assay designed for the qualitative detection of antibodies specific to HCV, in human serum, plasma (heparin, EDTA and sodium citrate) or whole blood. Bioline™ HCV is intended only for professional use as the initial test, as an aid to diagnosis. Reactive specimens should be reflexed for additional testing, either by nucleic acid testing (NAT) technologies for the detection of HCV RNA or HCV core antigen testing, to identify current HCV infection. This product is intended for use in a population with high HCV prevalence who have a history of HCV risk exposure behaviour including pregnant women. This test may not be suitable for diagnosis of early infection or blood donation screening. The performance of the assay has not been established for populations of infants or children.

Materials provided and active ingredients of main components

1. The Bioline™ HCV test kit contains the following items to perform the assay:

Catalog No.	Contents
02FK10	1. 30 Test devices with desiccant in individual foil pouches 2. Assay diluent (1.5 ml/vial) 3. 1 Instructions for use
02FK16	1. 25 Test devices with desiccant in individual foil pouches 2. Assay diluent (1 x 5 ml/vial) 3. 25 Capillary pipettes (10 µl), 25 Sterile lancets, 25 Alcohol swabs 4. 1 Instructions for use
02FK17	1. 25 Test devices with desiccant in individual foil pouches 2. Assay diluent (1 x 5 ml/vial) 3. 25 Capillary pipettes (10 µl), 25 Safety lancets, 25 Alcohol swabs 4. 1 Instructions for use

2. Active ingredients of main components
   - Test device includes:
     - Gold conjugates: Protein A – gold colloid (1.0±0.2 µg)
     - Test line: Recombinant HCV antigens (core, NS3, NS4, NS5) (1.5±0.3 µg)
     - Control line: Goat anti-human Immunoglobulin (2.0±0.4 µg)
   - Assay diluent includes: 50 mM Tris-HCl Buffer (5 ml), Sodium azide (0.02 %)

Materials required but not provided

- Micropipette, Protective gloves, Timer, Biohazard container

Kit storage and stability

1. The test kit should be stored at a temperature between 1°C and 30 °C. Do not freeze the kit or its components.
2. Assay diluent may be opened and resealed for each assay. Cap should be firmly sealed between each use. Assay diluent is stable until expiration date if kept at 1 - 30 °C.
3. The test device is sensitive to both heat and humidity. Perform the test immediately after removing the test device from foil pouch.
4. Do not use the test kit beyond its expiration date. The shelf life of the kit is as indicated on the outer package.
5. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.

Warnings

1. The test devices are for *in vitro* diagnostic use only. Do not reuse the test device.
2. The instructions must be followed exactly to achieve accurate results. Any individual performing an assay with this product must be trained in its use and must be proficient.
3. Do not use the pipette by mouth, smoke, drink, eat, apply cosmetics, or handle contact lenses in areas where specimens or kit components are being handled.
4. Wear protective gloves while handling specimens and wash hands thoroughly afterwards.
5. Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
6. Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials in a biohazard container as if they were infectious waste.
7. Do not mix or interchange different specimens.
8. Do not eat the desiccant from the foil pouch.
9. Avoid splashing or aerosol formation of specimen and assay diluent.
10. Do not mix or interchange components among different lots or those for other products.
11. Do not drink assay diluent.
12. Care should be taken to avoid contamination of the bottle nozzle when dropping assay diluent into the specimen well.
13. The assay diluent contains a proprietary anti-microbial agent, sodium azide, which presents no hazard to the user if normal laboratory safety precautions are followed. If contact with assay diluent to the eyes and/or skin, wash affected area with soap and water immediately. If irritation or signs of toxicity occur, seek medical attention.
14. The assay diluent contains sodium azide, which may react with lead or copper plumbing to form highly explosive metal azide compounds. When disposing of these reagents through plumbing fixtures, flush with a large volume of water to prevent azide build-up in the pipes.
15. Even though the color of assay diluent is changed to faint yellow, it doesn't affect the performance and stability of the kit.

Specimen collection and storage

1. Whole blood
[Collection by venipuncture]
Using venipuncture, draw whole blood into the collection tube containing anticoagulants including heparin, EDTA and sodium citrate).
- If the blood specimen is not immediately tested, it must be refrigerated at 2 - 8 °C.
- If stored at 2 - 8 °C, the blood specimen must be tested within 3 days of refrigeration.
- Do not use a blood specimen stored for more than 3 days; it can cause a nonspecific reaction.
- Bring blood specimen room temperature (15 - 30 °C) prior to use.

[Collection using a lancet]
- Clean the area to be lanced with an alcohol swab.
- Squeeze the fingertip: then prick the lateral side of the finger with a lancet provided. Wipe away the first blood drop. Then, safely dispose of the lancet immediately after.
- Immerse the open end of a new capillary pipette (10 µl) in the next blood drop and release the pressure to draw blood into the capillary pipette up to the fill line.

2. Plasma or serum
(Plasma) Using venipuncture, draw the whole blood into the collection tube (containing anticoagulants including heparin, EDTA and sodium citrate) and then centrifuge blood to obtain the plasma specimen.
(Serum) Using venipuncture, draw the whole blood into the collection tube (NOT containing anticoagulants) then leave for 30 minutes to allow blood coagulation to occur. Centrifuge the tube to generate a serum specimen.
If plasma or serum specimens are not tested immediately, they must be refrigerated at 2 - 8 °C. For storage period longer than 2 weeks, freezing (below -20 °C) is required. Bring plasma or serum specimens to room temperature (15 - 30 °C) prior to use.
Plasma or serum specimens containing a precipitate may yield inconsistent test results. Such specimens must be clarified by centrifugation prior to assaying.

3. Precautions
- Repeated frozen-thawed cycle for specimen should be avoided.
- Anticoagulants including heparin, EDTA and sodium citrate do not affect the test result. Use of other anticoagulants has not been validated. Their use may affect the test result.
- Use new pipette tips for each specimen in order to avoid cross-contamination of other specimens which could cause erroneous results.

Test procedure

1. Bring all kit components and specimens to reach a temperature between 15 °C and 30 °C prior to testing.
2. Remove the test device from foil pouch and place it on a flat, dry surface. Label the test device with a patient identifier.
3. **[Using a micropipette]**
   Dispense 10 µl of plasma, serum or whole blood specimen into the specimen well marked "S".
   Or,
   [Using a capillary pipette]
   Dispense 10 µl of drawn whole blood specimen into the specimen well marked "S".
4. Dispense 4 drops of assay diluent into the specimen well "S".
   ⚠ **Caution:** If you do not hold the bottle vertically, it can lead to inaccurate results. Exactly, 4 drops should be added. Adding more than 4 drops may result in reddish color background or an invalid result.
5. As the test begins to work, you will see purple color move across the result window in the center of the test device.
6. Interpret test results 5 - 20 minutes after adding assay diluent. Do not read after 20 minutes.
   ⚠ **Caution:** If the test result is not legible after 5 minutes due to high background color, read again later but within 20 minutes of adding the diluent. Reading outside of this time frame (before 5 min or after 20 min) may result in false results.

Test interpretation

1. A colored control line will appear at "C" in the result window to show that the test is working properly. The "T" section of the test window indicates the test result.
2. **Non-reactive result:** The presence of only the control line (C) within the result window indicates a non-reactive result.
3. **Reactive result:** The presence of the test line (T) and the control line (C) within the result window, regardless of which line appears first, indicates a reactive result.
   ⚠ **Caution:** The presence of any test line, no matter how faint, the result is considered reactive.
4. **Invalid result:** If the control line (C) is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. Instructions may not have been followed correctly or the test may have deteriorated. It is recommended that the specimen be retested using a new test device.

Test limitations

1. A non-reactive result does not preclude the possibility of infection with HCV. Other clinically available tests are required if questionable results are obtained. In addition, a definitive clinical diagnosis of infection should not be based on the result of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
2. Due to the inherent design of qualitative IVD tests, a faint or absent test line (false non-reactive) may occur in specimens containing high antibody densities; the prozone effect. In order to obtain a definitive result, all clinical and laboratory findings should be evaluated.

Internal quality control

The Bioline™ HCV test device has 2 pre-coated lines on the surface of the test: "T" (test line) and "C" (control line). Neither the test line nor the control line is visible in the result window before applying a specimen. The control line is used for procedural control and shows only that the diluent has been applied successfully and that the active ingredients of the main components on the strip are functional, but it is not an assurance that the specimen has been properly applied; it is not a reactive specimen control.

Performance characteristics

1. The Bioline™ HCV test kit is designed to have 99.3 % (95 % CI: 96.1 - 99.9 %) of sensitivity and 98.1 % (95 % CI: 94.5 - 99.4 %) of specificity.
   A total of 299 serum specimens collected from Korea were tested on the Bioline™ HCV in Korea. The serum specimens were comprised of 142 positive and 157 negative clinical serum specimens confirmed by a leading commercial anti-HCV ELISA test. The results gave sensitivity of 99.3 % (141/142), a specificity of 98.1 % (154/157).

Reference assay		Bioline™ HCV		Total Results
		Reactive	Non-reactive	
Anti-HCV ELISA	Positive	141	1	142
	Negative	3	154	157
Sensitivity (95 % CI)		99.3 % (96.1 - 99.9 %)		
Specificity (95 % CI)		98.1 % (94.5 - 99.4 %)		

   Even though our intended performance is as above, the results of individual laboratories may vary from these data because the results can be unique to the population it serves depending upon geographical, patient, dietary, environmental and other factors.

2. Bioline™ HCV test kit has been evaluated in 4 different sites as below.
1) Study 1
   A total of 1,187 specimens collected from Korea were tested on the Bioline™ HCV in Korea. The serum specimens were comprised of 157 positive and 1,030 negative clinical serum specimens confirmed by a leading commercial anti-HCV ELISA test. The specimens repeatedly reactive both by ELISA and Bioline™ HCV were tested by the confirmatory assay using RT-PCR.

Reference assay		Bioline™ HCV		Total Results
		Reactive	Non-reactive	
Anti-HCV ELISA	Positive	157	0	157
	Negative	6	1,024	1,030
Sensitivity (95 % CI)		100 % (97.6 - 100 %)		
Specificity (95 % CI)		99.4 % (98.7 - 99.7 %)		

2) Study 2 : European performance evaluation according to the common technical specification (2009/886/EC)
2-1) Diagnostic sensitivity for anti-HCV detection
   - Diagnostic panel of seroconversions
     410 anti-HCV positive specimens were tested by Sanquin in the Netherlands and the German Red Cross. The diagnostic sensitivity for anti-HCV antibody detection, calculated on 410 positive specimens, was 99.3 %.

   Table1. Result obtained with the Bioline™ HCV on all Anti-HCV positive specimens

		Bioline™ HCV	
		Reactive	Non-reactive
Anti-HCV positive serum/plasma (n=213)		211	2
Anti-HCV positive whole blood/plasma couples (n=100)		100	0
Anti-HCV with known genotype (n=97)		96	1
Total (n=410)		407	3
Sensitivity (95 % CI)		99.3 % (97.9 - 99.8 %)	

   - Anti-HCV positive serum/plasma
     213 anti-HCV positive specimens confirmed with CHIRON HCV RIBA™ 3.0 SIA or INNO-LIA HCV Score without genotype information were tested at Sanquin. In two specimens the Bioline™ HCV obtained a non-reactive result.
   - Anti-HCV positive whole blood/plasma couples (Paired specimens)
     100 paired whole blood and plasma specimens anti-HCV positive with Abbott Architect anti-HCV, taken from HCV infected patients were tested at the German Red Cross. The Bioline™ HCV test was reactive on all 100 paired specimens.
   - Anti-HCV with known genotype
     94 specimens from patients with a known HCV genotype 1 to 6, based on the VERSANT HCV Genotype 2.0 Assay (LiPA) were tested by Sanquin, and 3 specimens of genotype 5 were tested by the German Red Cross.

   Table 2. Anti-HCV positive specimens with known genotype

		Bioline™ HCV	
		Reactive	Non-reactive
HCV genotype	**# Specimens**		
Genotype 1 (n=23)	1	1	0
	1a	10	0
	1b	12	1 1*
Genotype 2 (n=22)	2a/2c	13	13 0
	2b	9	9 0
Genotype 3 (n=25)	3	1	1 0
	3a	22	22 0
	3b	1	1 0
	3k	1	1 0
Genotype 4 (including non 4a) (n=20)	4a/4c/4d	4	4 0
	4c/4d	14	14 0
Genotype 5 (n=5)	5a	2	2 0
	5	3	3 0
Genotype 6 (n=2)	6	1	1 0
	6a	1	1 0
Agreement (95 % CI)		99.6 % (97.7 - 99.9 %)	

   *The specimen was weak positive of Hepatitis C confirmed by commercial anti-HCV assay.

3) Analytical performance
   Analytical specificity
   - 200/200 hospitalised patients were non-reactive on the Bioline™ HCV.
   - 200/200 specimens of pregnant women (incl. 20 specimens of multipara) were non-reactive on the Bioline™ HCV.
   - 100/100 specimens containing potentially cross reactive substances were non-reactive on the Bioline™ HCV (20 Anti-HBs positive, 20 Anti-HBc positive, 20 Anti-HIV positive, 10 Anti-HTLV I/II positive, 20 Anti-HEV positive, 10 Rheumatoid factor positive).
   The following potential cross-reacting pathogens had no effect on test results of Bioline™ HCV.

Anti-HBs	CMV	VIH	Syphilis
Borrelia burgdorferi	EBV	HTLV	Toxoplasma
Chlamydia	HBsAg	Influenza	*Trypanosoma cruzi* I / II

   - The following 9 potential interfering substances had no effect on test results of Bioline™ HCV: Pregnant women, high cholesterol (1240 mg/dl.), high bilirubin (11.4 mg/dl.), Rheumatoid factor (1228 IU/ml), lipemic, hemolyzed, autoimmune, alcoholic cirrhosis, multiparous pregnancy
   - Pharmaceutical substances
     There was no significant interference with the following 25 drugs on Bioline™ HCV. All drugs were tested at concentrations of 250 µg/mL.

Abacavir	Ergocalciferol	Naproxen	
Acetaminophen	Folic acid	Nevirapine	
Acetylsalicylic acid	Hydrochlorothiazide	Pantoprazole	
Amoxicillin	Ibuprofen	Pyrasinamide	
Aspirin	Iron Chloride	Rifampicin	
Cholecalciferol	Isoniazid	Ritonavir	
Cyclobenzaprine	L-ascorbic acid	Salicylic acid	
Darunavir	Magnesium sulfate		
Diclofenac	Metformin		

4) Sensitivity on seroconversion panels
   20 commercially available seroconversion panels (SeraCare Life Sciences and Zeptometrix) were tested with Bioline™ HCV by Sanquin.
   In total 54 specimens were tested reactive with Bioline™ HCV and 47 with the competitor tests.

Panel ID	Bioline™ HCV	Ortho HCV 3.0 or Ortho Enhanced SAVe Anti-HCV 3.0 (*)
PHV904	3/7	3/7
PHV905	3/9	4/9
PHV911	3/5	3/5
PHV913	0/4	0/4
PHV914	5/9	3/9
PHV915	2/4	2/4
PHV918	1/8	2/8
PHV919 (*)	7/7	3/7
PHV920	6/10	6/10
6213	2/12	2/12
6214	6/13	4/13
6224	2/6	0/6
6226	4/12	3/12
6228	3/12	3/12
6229	3/8	3/8
9044	2/6	2/6
9045	2/8	1/8
9047	4/10	4/10
9054	1/10	1/10 (*)
9058	2/5	1/5 (*)
Total de sangrados reactivos (*)	54	47

   (*) : le test Bioline™ HCV a obtenu des lignes faiblement réactives pour tous les membres du panel PHV919. Dans la mesure où les premiers prélèvements ont réactifs avec tous les tests concurrents, ces faibles réactions initiales avec le test Bioline™ HCV ont été jugées non spécifiques et ce panel n'a donc pas été pris en compte.

5) Specificité diagnostique
   Au total, 1 000 échantillons de plasma et 500 échantillons de sang total de donneurs de sang négatifs pour les anticorps anti-VHC avec ABBOTT PRISM ont été testés. Les échantillons provenaient de la société de prélèvement en Allemagne, à Francfort et à Ulm. La spécificité diagnostique calculée sur 1 500 échantillons négatifs était de 100 %.

2. Plasma ou sérum
(Plasma) Prélever par ponction veineuse du sang total dans un tube de prélèvement (contenant des anticoagulants, notamment de l'héparine, de l'EDTA et du citrate de sodium) puis centrifuger pour obtenir l'échantillon de plasma.
(Sérum) Prélever du sang total dans un tube de prélèvement (SANS anticoagulant) par ponction veineuse et laisser le sang reposer pendant au moins 30 minutes pour permettre la coagulation. Centrifuger le tube pour obtenir un échantillon de sérum.
Si les échantillons de plasma ou de sérum ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés à une température comprise entre 2 et 8 °C. Si la période de stockage doit excéder 2 semaines, les échantillons doivent être congelés (à moins de -20 °C). Amener les échantillons de plasma ou de sérum à température ambiante entre 15 et 30 °C) avant utilisation.
Les échantillons de plasma ou de sérum contenant un précipité peuvent générer des résultats de test incohérents. Ils doivent donc être clarifiés par centrifugation avant réalisation du test.

3. Précautions
- Eviter de soumettre les échantillons à des cycles répétés de congélation-décongélation.
- Les anticoagulants, notamment l'héparine, l'EDTA et le citrate de sodium, n'ont aucune incidence sur le résultat du test. L'utilisation d'autres anticoagulants n'a pas été validée. Il est possible qu'ils aient une incidence sur le résultat du test.
- Utiliser des embouts de pipette neufs pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée entre échantillons, qui pourrait entraîner des résultats erronés.

Procédure de test

1. Laisser tous les composants du kit et les échantillons atteindre une température comprise entre 15 et 30 °C avant de procéder au test.
2. Retirer le dispositif de test de l'emballage en aluminium et le placer sur une surface plane et sèche. Apposer une étiquette indiquant l'identité du patient sur le dispositif de test.
3. **[Avec une micropipette]**
   Déposer 10 µl de plasma, de sérum ou de sang total de patient dans l'échantillon marqué « S ».
   Ou
   [Avec une pipette capillaire]
   Déposer 10 µl d'échantillon de sang total prélevé dans le puits d'échantillon marqué « S ».
4. Ajouter 4 gouttes de diluent dans le puits d'échantillon « S ».
   ⚠ **Mise en garde:** si le flacon n'est pas maintenu à la verticale, les résultats obtenus risquent d'être inexacts. Il faut ajouter très exactement 4 gouttes. Ajouter plus de 4 gouttes peut entraîner un fond coloré rougeâtre ou provoquer un résultat non valide.
5. Une bande de couleur violette traverse la fenêtre de résultat, au centre du dispositif de test, au fur et à mesure du déroulement du test.
6. Interpréter les résultats du test 5 à 20 minutes après l'ajout du diluent. Ne pas attendre plus de 20 minutes pour lire les résultats.
   ⚠ **Mise en garde:** si le résultat du test n'est pas lisible au bout de 5 minutes en raison d'un bruit de fond élevé, retenter la lecture ultérieurement, mais pas plus de 20 minutes après l'ajout du diluent. Toute lecture en dehors la période prescrite (c'est-à-dire avant 5 minutes ou après 20 minutes) peut donner lieu à des résultats erronés.

Interprétation du test

1. Une ligne de contrôle colorée apparaît au niveau du « C » dans la fenêtre de résultat pour indiquer le bon fonctionnement du test.
2. La partie « T » de la fenêtre de résultat indique le résultat du test.
3. **Résultat non-réactif:** la présence de la ligne de contrôle uniquement (C) dans la fenêtre de résultat indique un résultat non réactif.
4. **Résultat réactif:** la présence de la ligne de test (T) et de la ligne de contrôle (C) dans la fenêtre de résultat, quelle que soit la ligne apparue en premier, indique un résultat réactif.
   ⚠ **Mise en garde:** si la ligne de test est présente, même très pâle, le résultat est considéré comme réactif.
5. **Résultat non valide:** si la ligne de contrôle (C) n'est pas visible dans la fenêtre de résultat après la réalisation du test, le résultat est considéré comme non valide. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test soit détérioré. Il est recommandé d'analyser à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

Limites du test

1. Un résultat non réactif n'élimine pas l'éventualité d'une infection par le VHC. D'autres tests cliniques doivent être utilisés en cas d'obtention de résultats douteux. Comme pour tout examen, un diagnostic définitif ne doit pas reposer sur le résultat d'un seul test, mais doit être posé par le médecin uniquement, après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire.
2. Compte tenu de la conception inhérente des tests de diagnostic in vitro, on peut observer une ligne de test pâle ou absente (échantillon fortement non réactif) avec les échantillons renfermant des densités élevées d'anticorps, ce qu'on appelle l'effet prozone. Afin d'obtenir un résultat définitif, tous les résultats cliniques et de laboratoire doivent être évalués.

Contrôle qualité interne

Le dispositif de test Bioline™ HCV comporte en surface 2 lignes pré-enduites : « T » (ligne de test) et « C » (ligne de contrôle). Aucune de ces lignes n'est visible dans la fenêtre de résultat avant l'application d'un échantillon. La ligne de contrôle sert à vérifier le bon fonctionnement du test et indique uniquement que le diluent a été correctement appliqué et que les ingrédients actifs des composants principaux de la bandelette fonctionnent. Elle ne garantit pas que l'échantillon a été correctement appliqué et ne correspond en aucun cas à un contrôle d'échantillon réactif.

Caractéristiques de performance

1. Le kit de test Bioline™ HCV est conçu pour présenter une sensibilité de 99,3 % (IC à 95 % : 96,1–99,9 %) et une spécificité de 98,1 % (IC à 95 % : 94,5–99,4 %).
   Au total, 299 échantillons de sérum prélevés en Corée ont été testés à l'aide du test Bioline™ HCV en Corée. Ils incluaient 142 échantillons cliniques de sérum positifs et 157 échantillons cliniques de sérum négatifs confirmés par un test ELISA de détection des anticorps anti-VHC leader sur le marché. Les résultats ont donné une sensibilité de 99,3 % (141/142) et une spécificité de 98,1 % (154/157).

Dosage de référence		Bioline™ HCV		Nombre total de résultats
		Réactif	Non réactif	
ELISA anti-VHC	Positif	157	0	157
	Négatif	6	1 024	1 030
Sensibilité (IC à 95 %)		100 % (97,6–100 %)		
Spécificité (IC à 95 %)		99,4 % (98,7–99,7 %)		

2) Étude 2 : évaluation européenne des performances conformément aux spécifications techniques communes (2009/886/CE)
2-1) Sensibilité diagnostique pour la détection des anticorps anti-VHC
   - Échantillons positifs pour les anticorps anti-VHC
     410 échantillons positifs pour les anticorps anti-VHC ont été testés par Sanquin aux Pays-Bas et par la Croix Rouge allemande. La sensibilité diagnostique de la détection des anticorps anti-VHC, calculée sur 410 échantillons positifs, était de 99,3 %.

   Tableau 1. Résultat obtenu avec le test Bioline™ HCV sur tous les échantillons positifs pour les anticorps anti-VHC

		Bioline™ HCV	
		Réactif	Non réactif
Échantillons de sérum/plasma positifs pour les anticorps anti-VHC (n=213)		211	2
Ensembles sang total/plasma positifs pour les anticorps anti-VHC (n=100)		100	0
Anticorps anti-VHC avec génotype connu (n=97)		96	1
Total (n=410)		407	3
Sensibilité (IC à 95 %)		99,3 % (97,9–99,8 %)	

   - Échantillons de sérum/plasma positifs pour les anticorps anti-VHC
     213 échantillons positifs pour les anticorps anti-VHC confirmés avec les tests CHIRON HCV RIBA™ 3.0 SIA ou INNO-LIA HCV Score sans informations sur le génotype ont été testés par Sanquin. Le test Bioline™ HCV a donné un résultat non réactif pour deux échantillons.
   - Ensembles sang total/plasma positifs pour les anticorps anti-VHC (échantillons appariés)
     100 ensembles d'échantillons appariés de sang total et de plasma positifs pour les anticorps anti-VHC avec le test Abbott Architect anti-HCV, prélevés sur des patients infectés par le VHC, ont été testés par la Croix Rouge allemande. Le test Bioline™ HCV a été réactif pour les 100 échantillons appariés.
   - Anticorps anti-VHC avec génotype connu
     94 échantillons de patients avec génotype du VHC connu (1 à 6) sur la base du test VERSANT HCV Genotype 2.0 (LiPA) ont été testés par Sanquin et 3 échantillons de génotype 5 ont été testés par la Croix Rouge allemande.

   Tableau 2. Échantillons positifs pour les anticorps anti-VHC avec génotype connu

Génotype du VHC		Bioline™ HCV	
	Nbre d'échantillons	Réactif	Non réactif
Génotype 1 (n=23)	1	1	0
	1a	10	0
	1b	12	1 1*
Génotype 2 (n=22)	2a/2c	13	13 0
	2b	9	9 0
Génotype 3 (n=25)	3	1	1 0
	3a	22	22 0
	3b	1	1 0
	3k	1	1 0
Génotype 4 (y compris non 4a) (n=20)	4a/4c/4d	4	4 0
	4c/4d	14	14 0
Génotype 5 (n=5)	5a	2	2 0
	5	3	3 0
Génotype 6 (n=2)	6	1	1 0
	6a	1	1 0

   *L'échantillon a été confirmé comme étant faiblement positif à l'hépatite C par un test anti-VHC commercial.

3) Performances analytiques
   Spécificité analytique
   - 200 patients hospitalisés sur 200 ont obtenu un résultat non réactif avec le test Bioline™ HCV.
   - 200 échantillons de sérum de femmes enceintes sur 200 (y compris 20 échantillons de femmes multipares) ont obtenu un résultat non réactif avec le test Bioline™ HCV.
   - 100 échantillons contenant des substances pouvant entraîner une réactivité croisée sur 100 ont obtenu un résultat non réactif avec le test Bioline™ HCV (20 échantillons positifs pour les anticorps anti-HBs, 20 échantillons positifs pour les anticorps anti-HBc, 20 échantillons positifs pour les anticorps anti-VIH, 10 échantillons positifs pour les anticorps anti-HTLV I/II, 20 échantillons positifs pour les anticorps anti-VHE, 10 échantillons positifs pour le facteur rhumatoïde).
   Les agents pathogènes suivants susceptibles de provoquer une réactivité croisée n'ont eu aucune incidence sur les résultats du test Bioline™ HCV.

Anti-HBs	CMV	VIH	Syphilis
Borrelia burgdorferi	VEB	HTLV	Toxoplasma
Chlamydia	HBsAg	Influenza	*Trypanosoma cruzi* I / II

   - Les 9 substances potentiellement interférentes suivantes n'ont eu aucune incidence sur les résultats du test Bioline™ HCV : grossesse, cholestérol élevé (1 240 mg/dl), bilirubine élevée (1.14 mg/dl), facteur rhumatoïde (1 228,2 UI/ml), échantillons lipémiques, hémolysés, auto-immuns, cirrhose alcoolique, grossesse multipare.
   - Substances pharmaceutiques
     Aucune interférence notable n'a été observée avec les 25 médicaments suivants lors de la réalisation du test Bioline™ HCV. Tous les médicaments ont été testés à une concentration de 250 µg/ml.

Abacavir	Ergocalciférol	Naproxène	
Paracétamol	Acide folique	Névirapine	
Acide acétylsalicylique	Hydrochlorothiazide	Pantoprazole	
Amoxicilline	Ibuprofène	Pyrasinamide	
Aspirine	Chlorure de fer	Rifampicine	
Chlécalciférol	Isoniazide	Ritonavir	
Cyclobenzaprine	Acide L-ascorbique	Acide salicylique	
Darunavir	Sulfate de magnésium		
Diclofénac	Metformine		

4) Effet prozone
   Le test Bioline™ HCV peut subir un effet prozone (résultat faussement non réactif) pour les échantillons présentant un ratio signal/seuil supérieur à environ 11,0 au test ELISA anti-VHC Abbot Architect et un ratio signal/seuil égal à environ 3,0 au test ELISA anti-VHC Ortho HCV version 3.0.

FRANÇAIS

À propos du test

[Introduction] Le virus de l'hépatite C (VHC) est reconnu comme étant un agent majeur d'hépatite chronique, d'hépatite post-transfusionnelle non A et non B, et de maladie hépatique dans le monde entier. Le VHC est un virus enveloppé à ARN simple brin à polarité positive. Le test de détection de l'infection par le VHC commence par un test sérologique de détection des anticorps anti-VHC dans le sang, réalisé en laboratoire ou à l'aide d'un test rapide. Un résultat réactif indique une infection présumée par le VHC. Après obtention d'un test réactif pour les anticorps du VHC, il est recommandé de réaliser un test d'amplification des acides nucléiques afin de détecter l'ARN du VHC pour confirmer l'infection. Abbott Diagnostics Korea a construit des gènes du VHC permettant l'expression d'antigènes recombinants dans des systèmes bactériens comme *E. coli*, en se concentrant sur les régions immunogènes structurales et non structurales de la polyprotéine codifiée par le VHC. Il a été établi que les principaux antigènes immunoactifs de ces protéines sont les régions capside, NS3, NS4 et NS5 du génome du VHC, qui sont connues pour être extrêmement immunodominantes. Ces protéines recombinantes ont été utilisées pour le test immunochromatographique sur microbilles pour la détection de l'infection par le VHC. Les protéines recombinantes incluant plusieurs antigènes sont utilisées pour limiter le risque de réactivité croisée non spécifique et accroître la sensibilité du test, offrant ainsi une amélioration par rapport aux tests sérologiques de première génération pour la détection des anticorps du VHC qui utilisaient un seul antigène recombinant.

[Principe du test] Le test Bioline™ HCV est composé d'une bandelette en membrane de nitrocellulose recouverte d'antigène de capture recombinant du VHC (capside, NS3, NS4 et NS5) au niveau de la zone test (T). Le conjugué protéine A-or colloïdal et l'échantillon se déplacent sur la membrane par chromatographie pour atteindre la zone de test, où le complexe antigène-anticorps-protéine A-particule d'or forme une ligne visible avec un degré élevé de sensibilité et de spécificité. Les lettres « T » et « C » sont inscrites sur la surface du boîtier du dispositif de test, pour indiquer la ligne de test et la ligne de contrôle. La ligne de test et la ligne de contrôle de la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant l'application de l'échantillon. La ligne de contrôle est une procédure de contrôle. Elle devrait systématiquement si la procédure a été réalisée correctement et que les réactifs de la ligne de contrôle fonctionnent.

[Application] Le test Bioline™ HCV est un dosage rapide immunochromatographique *in vitro* conçu pour la détection qualitative des anticorps spécifiques au VHC dans le sérum, le plasma (sur héparine, EDTA et citrate de sodium) et le sang total humains. Il est réservé à un usage professionnel et doit être utilisé comme test de dépistage initial pour faciliter le diagnostic. Les échantillons réactifs doivent être soumis à un autre test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) visant à détecter l'ARN du VHC, soit un test de l'antigène de la capside du VHC, afin d'identifier une infection en cours par le VHC. Ce produit est destiné à être utilisé dans une population où la prévalence du VHC est élevée ou ayant des antécédents de comportements à risque d'exposition au VHC, notamment chez les femmes enceintes. Ce test peut ne pas être adapté pour le diagnostic d'une infection précoce ou pour un dépistage en vue d'un don de sang. Les performances de ce test n'ont pas été établies pour les populations de nourrissons ou d'enfants.

Matériel fourni et principes actifs des principaux composants

1. Le kit de test Bioline™ HCV contient le matériel suivant pour la réalisation du test :

Numéro catalogue	Contenu
02FK10	1. 30 dispositifs de test avec agent déshydratant conditionnés dans des emballages individuels en aluminium 2. Diluant du test (1 x 5 ml/flacon) 3. 1 mode d'emploi
02FK16	1. 25 dispositifs de test avec agent déshydratant conditionnés dans des emballages individuels en aluminium 2. Diluant du test (1 x 5 ml/flacon) 3. 25 pipettes capillaires (10 µl), 25 lancettes stériles, 25 compresses d'alcool 4. 1 mode d'emploi
02FK17	1. 25 dispositifs de test avec agent déshydratant conditionnés dans des emballages individuels en aluminium 2. Diluant du test (1 x 5 ml/flacon) 3. 25 pipettes capillaires (10 µl), 25 lancettes de sécurité, 25 compresses d'alcool 4. 1 mode d'emploi

2. Principes actifs des principaux composants
   - 1 dispositif de test comprend :
     - Conjugués à l'or : protéine A – or colloïdal (1,0 ± 0,2 µg)
     - Ligne de test : antigènes recombinant du VHC (capside, NS3, NS4, NS5) (1,5 ± 0,3 µg)
     - Ligne de contrôle : anticorps de chèvre anti-immunoglobuline humaine (2,0 ± 0,4 µg)
   - Le diluant du test contient : tampon Tris-HCl 50 mM (5 ml), azoture de sodium (0,02 %)

Matériel nécessaire non fourni

- Micropipette, gants de protection, minuteur, conteneur pour déchets présentant un danger biologique

Stockage et stabilité du kit

1. Le kit de test doit être conservé à une température comprise entre 1 et 30 °C. Ne pas congeler le kit ni les composants.
2. Le diluant du test peut être ouvert, puis refermé pour chaque dosage. Le conjugué doit rester bien fermé entre deux utilisations. Le diluant du test reste stable jusqu'à sa date de péremption s'il est conservé à une température comprise entre 1 et 30 °C.
3. Le dispositif de test est sensible à la chaleur et à l'humidité. Effectuer le test immédiatement après avoir retiré

2) Prozone effect
Bioline™ HCV may exhibit prozone effect (false non-reactive result) in specimens which have higher than SrCO of approx. 11.0 in Abbott Architect and SrCO approx. 3.0 in Ortho HCV version 3.0 ELISA anti HCV assays.

3) Specimen matrix
Validation on whole blood was done by testing 500 negative and 100 positive anti-HCV specimens. The performance of Bioline™ HCV on whole blood was comparable to the performance on plasma specimens. (See table 1 and table 3 presented in study 2 above.) Validation on serum and different plasma specimen types (EDTA / Heparin / Sodium citrate) was performed by German Red Cross. The results obtained on negative and positive specimens are identical in serum, EDTA plasma, heparin plasma and citrate plasma.

Table 4. Serum/plasma (EDTA / Heparin / Sodium citrate) equivalence

Specimen type	No. of Bioline™ HCV reactive/No. of positive specimens	No. of Bioline™ HCV non-reactive/ No. of negative specimens
Serum	25/25	25/25
EDTA plasma	25/25	25/25
Heparin plasma	25/25	25/25
Na-Citrate plasma	25/25	25/25

4) Complement factors interference in fresh serum specimens
In total 25 negative specimens, spiked with an anti-HCV positive specimen were tested within 24 hours after collection and retested after being stored at 4 °C for 1, 2, 3 and 4 days. No differences were observed on the results obtained on the fresh specimens and the same specimen stored for 1 to 4 days at 4 °C.

Table 5. Result obtained on spiked fresh specimens

		Bioline™ HCV	
		Reactive	Non-reactive
25 negative specimens	**day 0**	0	25
	day 0	25	0
25 negative specimens spiked with anti-HCV	**day 1**	25	0
	day 2	25	0
	day 3	25	0
	day 4	25	0

5) Reproducibility of the Bioline™ HCV has been demonstrated by within-run, between-run, and batch-to-batch studies using in-house reference panels. All values were identical to reference panel acceptance criteria.

Product Disclomer:
While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the manufacturer and distributor and test results may accordingly be affected by environmental factors and/or user error. The subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the test result.

Warning:
The manufacturers and distributors of this product shall not be liable for any direct, indirect, or consequential losses, liability, claims, costs or damages arising from or related to an incorrect reactive or non-reactive result using this product.

3) Matrice d'échantillons
La validation sur sang total a été réalisée en testant 500 échantillons négatifs pour les anticorps anti-VHC et 100 échantillons positifs. Les performances du test Bioline™ HCV sur sang total étaient comparables à ses performances sur des échantillons de plasma (voir les tableaux 1 et 3 présentés pour l'étude 2 ci-dessus). La validation sur sérum et sur différents types d'échantillon de plasma (EDTA/héparine/citrate de sodium) a été réalisée par la Croix Rouge allemande. Les résultats obtenus pour les échantillons positifs et négatifs sont identiques pour le sérum, la plasma avec EDTA, le plasma avec héparine et le plasma avec citrate.

Tableau 4. Équivalence sérum/plasma (EDTA/héparine/citrate de sodium)

Type d'échantillon	Nbre d'échantillons Bioline™ HCV réactifs/ nbre d'échantillons positifs	Nbre d'échantillons Bioline™ HCV non réactifs/nbre d'échantillons négatifs
Sérum	25/25	25/25
Plasma EDTA	25/25	25/25
Plasma héparine	25/25	25/25
Plasma Na-citrate	25/25	25/25

4) Interférence des facteurs du complément dans les échantillons de sérum frais
Au total, 25 échantillons négatifs additionnés d'un échantillon positif pour les anticorps anti-VHC ont été testés dans les 24 heures suivant leur prélèvement, puis de nouveau après conservation à 4 °C pendant 1, 2, 3 et 4 jours. Aucune différence n'a été observée entre les résultats obtenus avec les échantillons frais et les mêmes échantillons conservés pendant 1 à 4 jours à 4 °C.

Tableau 5. Résultats obtenus sur les échantillons frais additionnés d'échantillon positif

		Bioline™ HCV	
		Réactif	Non réactif
25 échantillons négatifs	**jour 0**	0	25
	jour 0	25	0
25 échantillons négatifs additionnés d'anticorps anti-VHC	**jour 1**	25	0
	jour 2	25	0
	jour 3	25	0
	jour 4	25	0

5) La reproductibilité du test Bioline™ HCV a été démontrée par des études inter-cycles et intra-cycles et inter-lots, à l'aide de groupes de référence internes. Toutes les valeurs étaient identiques aux critères d'acceptation des panels de référence.

Clause de non-responsabilité :
Bien que toutes les précautions aient été prises pour garantir les performances diagnostiques et la précision de ce produit, il est utilisé en dehors du contrôle du fabricant et du distributeur. Les résultats peuvent donc être influencés par des facteurs environnementaux et/ou une erreur d'utilisation. Il est fortement recommandé au patient ayant reçu le diagnostic de consulter un médecin pour confirmer le résultat du test.

Avertissement :
Les fabricants et les distributeurs de ce produit ne peuvent, en aucune manière, être tenus responsables des pertes, dommages, réclamations ou coûts, quels qu'ils soient, directs, indirects ou consécutifs, dus ou liés à un diagnostic réactif ou non réactif erroné établi à l'aide de ce produit.

4) Interferencia de factores complementarios en muestras de suero fresco
En total, se evaluaron 25 muestras negativas, enriquecidas con una muestra positiva de anti-VHHC, dentro de las 24 horas siguientes a la extracción y se volvieron a evaluar después de estar almacenadas a 4 °C durante 1, 2, 3 y 4 días. No se observaron diferencias en los resultados obtenidos en las muestras frescas y en las mismas muestras almacenadas por 1 a 4 días a 4 °C.

Tabla 5. Resultado obtenido en muestras frescas enriquecidas

		Bioline™ HCV	
		Reactivo	No reactivo
25 muestras negativas	**día 0**	0	25
25 muestras negativas enriquecidas con anti-VHC	**día 0**	25	0
	día 1	25	0
	día 2	25	0
	día 3	25	0
	día 4	25	0

5) Se demostró la reproducibilidad de la prueba Bioline™ HCV con estudios dentro de una misma serie, entre series y entre diferentes lotes, con paneles de referencia internos. Todos los valores obtenidos fueron idénticos a los criterios de aceptabilidad del panel de referencia.

Advertencia sobre el producto:
Se han tomado todas las precauciones para garantizar la capacidad y la precisión diagnóstica de este producto. No obstante, el producto se usa fuera del control del fabricante o distribuidor y, de esa manera, los resultados pueden verse afectados por factores ambientales o error del usuario. El sujeto del diagnóstico debe consultar a un profesional para confirmar el resultado de la prueba.

Advertencia:
Los fabricantes y distribuidores de este producto no serán responsables por pérdidas directas, indirectas o derivadas, obligaciones, reclamos, costos o daños vinculados o relacionados con un resultado reactivo o no reactivo incorrecto utilizando este producto.

4) Interferência de fatores complementares e amostras de soro frescas
No total, 25 amostras fortificadas com uma amostra de anti-VHC positiva foram testadas no espaço de 24 horas após colheita e novamente testadas após estarem armazenadas a 4 °C durante 1, 2, 3 e 4 dias. Não foram observadas diferenças nos resultados obtidos nas amostras frescas e na mesma amostra armazenada durante 1 a 4 dias a 4 °C.

Quadro 5. Resultado obtido em amostras frescas fortificadas

		Bioline™ HCV	
		Reativo	Não-reativo
25 amostras negativas	**dia 0**	0	25
25 amostras negativas fortificadas com anti-VHC	**dia 0**	25	0
	dia 1	25	0
	dia 2	25	0
	dia 3	25	0
	dia 4	25	0

5) A reprodutibilidade do teste Bioline™ HCV foi demonstrada por estudos intraensaio, entre ensaios e de lote-para-lote utilizando painéis de referência internos. Todos os valores foram idênticos aos critérios de aceitação dos painéis de referência.

Renúncia de produto:
Embora tenham sido tomadas todas as precauções para garantir a capacidade e exatidão de diagnóstico deste produto, a mesma é utilizada fora do controlo do fabricante e distribuidor, pelo que os resultados dos testes poderão ser afetados em conformidade com fatores ambientais e/ou erros dos utilizadores. A pessoa a quem se aplica o diagnóstico deve consultar um médico para confirmar posteriormente o resultado.

Aviso:
Os fabricantes e os distribuidores deste produto não se responsabilizam por quaisquer perdas diretas, indiretas ou consequenciais, compensações, reclamações, custos ou danos resultantes ou relacionados com um diagnóstico incorreto, seja este reativo ou não reativo, aquando da utilização do produto.

Bibliography of suggested reading / Bibliographie

1. Arsah G., Czeslaw W., Chao Lin, Stephen M. Feinstone, and Charles M. Rice : Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products. Journal of Virology, March. 1993, p.1385-1395
2. Young Gyu Cho, Min Kyung Yi, Kyung Lib jang, Chang Min Kim and Young Chul Sung : Cloning and Overexpression of the Highly Immunogenic Region of HCV Genome from Korean Patients. Mol. Cells, Vol. 3, 4-7 : 416
3. S. Osborne, E. Cecconato, S. Grira, F. Garetto, R. Calegaro, C. Rosa and F. Bonelli : Expression in *E. coli* and purification of a chimeric p22-NS3 recombinant antigen of Hepatitis C Virus(HCV). Federation of European Biochemical Societies, Volume 324, number 3, 253-257
4. A. Yoshikawa, K. Takahashi, S. Kishimoto : Serodiagnosis of hepatitis C virus infection by ELISA for antibodies against the putative core protein (p20C) expressed in Escherichia coli. Journal of Immunological Methods, 148 (1992) 143-150
5. Mitchell B.L. et al, Impact freeze-thaw cycles and storage time on plasma samples used in mass spectrometry based biomarker discovery projects. Cancer Informatics, 2005;1:98-104
6. Cuhadar S. et al, The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. Biochemia Media, 2013;23(1):70-77

Date issued : 2020. 04
02FK10/02FK16/02FK17-04-A0

Abbott Diagnostics Korea Inc.
65, Borahagal-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, 17099, Republic of Korea
Tel : 82-31-899-2800 | Fax : 82-31-899-2840
abbott.com/poct

© 2020 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

PREPARATION / PRÉPARATION /PREPARACIÓN / PREPARAÇÃO

1

EN Open the package and look for the following:
1. Test device with desiccant in individual foil pouch
2. Assay diluent
3. Instructions for use

ES Abra el paquete y busque los siguientes elementos:
1. Dispositivo de prueba con desecante en bolsa de papel aluminio individual
2. Diluyente del ensayo
3. Instrucciones de uso

FR Ouvrir l'emballage et identifier les éléments suivants :
1. Dispositif de test avec agent déshydratant conditionné dans un emballage en aluminium individuel
2. Diluant du test
3. Mode d'emploi

PT Abra a embalagem e procure o seguinte:
1. Dispositivo de teste com dessecante em bolsa de folha de alumínio individual
2. Diluente de ensaio
3. Instruções de utilização

Including only for Catalog No. 02FK16 and 02FK17

Contenu, numéros catalogue 02FK16 et 02FK17 uniquement

Incluidos solo para los N.º de catálogo 02FK16 y 02FK17

Incluídas apenas para os códigos de catálogos 02FK16 e 02FK17

EN
1. Capillary pipette (10 µl)
2. Lancet
3. Alcohol swab

ES
1. Pipeta capilar (10 µl)
2. Lanceta
3. Hisopo con alcohol

FR
1. Capillary pipette (10 µl)
2. Lancet
3. Alcohol swab

PT
1. Pipeta capilar (10 µL)
2. Lanceta
3. Zaragatoa com álcool

2

EN Carefully read the instructions on how to use the Bioline™ HCV test kit.

ES Lea con atención las instrucciones de uso del kit de prueba Bioline™ HCV.

FR Lire attentivement le mode d'emploi du kit de test Bioline™ HCV.

PT Leia com atenção as instruções de utilização do kit de teste Bioline™ HCV.

3

EN Look at the expiration date at the back of the foil pouch. If the expiration date has passed, use another kit. To avoid false results, ensure that the assay diluent used is from the same kit as the new test device.

ES Lea la fecha de vencimiento indicada en la parte posterior de la bolsa. Si la fecha ya ha pasado, use otro kit. Para evitar falsos resultados, asegúrese de que el diluyente del ensayo utilizado sea del mismo kit que el dispositivo de prueba nuevo.

FR Vérifier la date de péremption à l'arrière de l'emballage en aluminium. Si elle est dépassée, utiliser un autre kit. Pour éviter d'obtenir des résultats erronés, veiller à utiliser le diluant du test provenant du même kit que le nouveau dispositif de test.

PT Verifique o prazo de validade na parte posterior da bolsa de folha de alumínio. Se o prazo de validade tiver sido ultrapassado, utilize outro kit. Para evitar resultados falsos, certifique-se de que o diluente do ensaio utilizado é do mesmo kit que o novo dispositivo do teste.

4

EN **Open the foil pouch and look for the following:**
1. Test device
2. Desiccant

Then, label the device with the patient identifier.

ES **Abra la bolsa de papel aluminio y busque los siguientes elementos:**
1. Dispositivo de prueba
2. Desecante

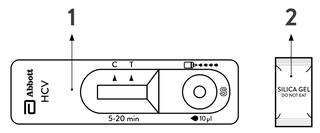
Luego, etiquete el dispositivo de prueba con un identificador del paciente.

FR **Ouvrir l'emballage en aluminium et identifier les éléments suivants :**
1. Dispositif de test
2. Agent déshydratant

Apposer ensuite une étiquette indiquant l'identifiant du patient sur le dispositif de test.

PT **Abra a bolsa de folha de alumínio e procure o seguinte:**
1. Dispositivo de teste
2. Dessecante

Em seguida, coloque uma etiqueta no dispositivo com o identificador do paciente.



10 µl : 10 µl of serum, plasma or whole blood specimen / 10 µl d'échantillon de sérum, de plasma ou de sang total / 10 µl de la muestra de suero, plasma o sangre/ 10 µl de amostra de soro, plasma ou de sangue total

: Assay diluent 4 drops / Diluant du test 4 gouttes / Diluyente del ensayo 4 gotas/ Diluente de ensaio 4 gotas

TEST PROCEDURE / PROCÉDURE DE TEST / PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA / PROCEDIMENTO DO TESTE

I. Blood (by venipuncture), Plasma or Serum specimen / I. Échantillon de sang (par ponction veineuse), de plasma ou de sérum / I. Muestra de sangre (por venopunción), plasma o suero / I. Amostra de sangue (por punção venosa), plasma ou soro

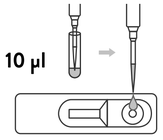
1

EN Take 10 µl of serum, plasma or whole blood specimen using a micropipette.
Dispense 10 µl of serum, plasma or whole blood specimen into the specimen well "S".

FR Prélever **10 µl d'échantillon de sérum, de plasma ou de sang total** à l'aide d'une micropipette.
Déposer 10 µl d'échantillon de sérum, de plasma ou de sang total dans le puits d'échantillon « S ».

ES Con una micropipeta, tome **10 µl de la muestra de suero, plasma o sangre.**
Instile 10 µl de la muestra de suero, plasma o sangre en el espacio para muestras "S".

PT Tire **10 µl de amostra de soro, plasma ou de sangue total** com uma micropipeta.
Deite 10 µl de amostra de soro, plasma ou sangue total no poço da amostra "S".



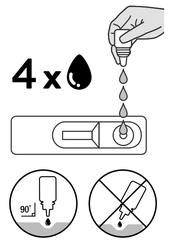
2

EN **Hold assay diluent bottle vertically and dispense 4 drops of assay diluent** into the specimen well "S". **Exactly, 4 drops should be added.** Do not let bottle tip touch device in order to avoid cross-contamination.

FR **Tenir le flacon de diluant du test à la verticale et déposer 4 gouttes dans** le puits d'échantillon « S ». **Il faut ajouter très exactement 4 gouttes.** Ne pas mettre l'embout du flacon en contact avec le dispositif afin d'éviter toute contamination croisée.

ES **Sostenga la botella del diluyente del ensayo en forma vertical y deposite 4 gotas del diluyente** del ensayo en los pocillos para muestras "S". **Agregue exactamente 4 gotas.** No permita que la punta de la botella entre en contacto con el dispositivo a fin de evitar la contaminación cruzada.

PT **Mantenha o frasco de diluente do ensaio na posição vertical e deite 4 gotas de diluente** do ensaio no poço para o poço da amostra "S". **Devem ser adicionadas, exatamente, 4 gotas.** Não deixe a ponta do frasco tocar no dispositivo de modo a evitar a contaminação cruzada.



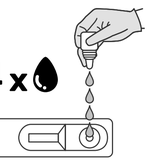
3

EN Interpret test results 5 - 20 minutes after adding assay diluent. Reading outside of this time frame (before 5 min or after 20 min) may provide false results.

FR Interpréter les résultats du test 5 à 20 minutes après l'ajout du diluant. Toute lecture en dehors de cette période (avant 5 minutes ou après 20 minutes) peut donner lieu à des résultats erronés.

ES Una vez transcurridos de 5 a 20 minutos de haber agregado el diluyente del ensayo, interprete los resultados. Leer el resultado fuera de ese marco de tiempo (antes de los 5 minutos o después de los 20 minutos) puede arrojar resultados falsos.

PT Interprete os resultados do teste 5 - 20 minutos após adicionar o diluente do ensaio. Efetuar a leitura fora deste intervalo de tempo (antes dos 5 minutos ou após os 20 minutos) pode fornecer resultados incorretos.



II. Blood specimen (with a lancet) / II. Échantillon de sang (avec une lancette) / II. Muestra de sangre (con una lanceta) / II. Amostra de sangue (com uma lanceta)

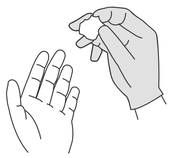
1

EN Clean the area to be lanced with an alcohol swab.

FR Nettoyer la zone de prélèvement avec une compresse d'alcool.

ES Limpie la zona en la que utilizará la lanceta con un hisopo con alcohol.

PT Limpe a área a lancetar com uma zaragatoa com álcool.



2

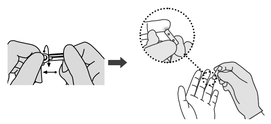
EN Squeeze the fingertip then prick the lateral side of the finger with a lancet provided. Wipe away the first blood drop. Then, safely dispose of the lancet immediately after.

FR Presser le bout du doigt et piquer le côté latéral du doigt avec une des lancettes fournies. Essuyer la première goutte de sang. Immédiatement après, jeter la lancette conformément aux règles de sécurité.

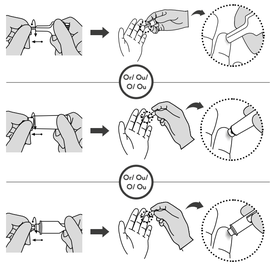
ES Apriete la punta del dedo y luego pinche el costado del dedo con la lanceta provista. Limpie la primera gota de sangre. Inmediatamente después, deseche la lanceta de manera segura.

PT Aperte a ponta do dedo e pique a lateral do dedo com uma lanceta fornecida. Limpe a primeira gota de sangue. Em seguida, elimine a lanceta em segurança imediatamente após a utilização.

[02FK16]



[02FK17]



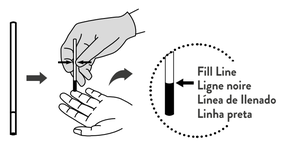
3

EN Immerse the open end of a new capillary pipette (10 µl) in the next blood drop and release the pressure to draw blood into the capillary pipette up to the fill line.

FR Immerger l'extrémité ouverte d'une pipette capillaire neuve (10 µl) dans la goutte de sang suivante, puis relâcher la pression pour aspirer le sang dans la pipette capillaire jusqu'au trait de remplissage.

ES Sumerja el extremo abierto de una nueva pipeta capilar (10 µl) en la siguiente gota de sangre y alivie la presión para introducir la sangre en la pipeta capilar hasta alcanzar la línea de llenado.

PT Com uma nova pipeta capilar (10 µL), mergulhe a extremidade aberta na gota de sangue seguinte e, em seguida, liberte a pressão para colher o sangue para a pipeta capilar até à marca.



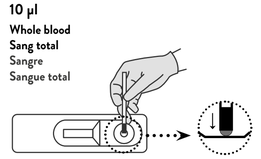
4

EN **Dispense 10 µl of drawn whole blood specimen** in the specimen well marked "S". Lightly touch the capillary pipette to the specimen pad while dispensing.

FR **Déposer 10 µl d'échantillon de sang total** prélevé dans le puits d'échantillon marqué « S ». Appuyer légèrement la pipette capillaire sur le tampon d'échantillon au moment de déposer l'échantillon.

ES **Deposite 10 µl de la muestra de sangre** extraída en el pocillo para muestras marcado con una "S". Al depositar la muestra, toque apenas la pipeta capilar con la almohadilla para muestras.

PT **Deite 10 µL de amostra de sangue total** colhida no poço de amostra marcado com "S". Toque ligeiramente com a pipeta capilar no bloco da amostra durante a dispensação.



5

EN Hold assay diluent bottle vertically and dispense 4 drops of assay diluent into the specimen well "S". Exactly, 4 drops should be added. Do not let bottle tip touch device in order to avoid cross-contamination.

FR **Tenir le flacon de diluant du test à la verticale et déposer 4 gouttes dans** le puits d'échantillon « S ». **Il faut ajouter très exactement 4 gouttes.** Ne pas mettre l'embout du flacon en contact avec le dispositif afin d'éviter toute contamination croisée.

ES **Sostenga la botella del diluyente del ensayo en forma vertical y deposite 4 gotas del diluyente** del ensayo en los pocillos para muestras "S". **Agregue exactamente 4 gotas.** No permita que la punta de la botella entre en contacto con el dispositivo a fin de evitar la contaminación cruzada.

PT **Mantenha o frasco de diluente do ensaio na posição vertical e deite 4 gotas de diluente** do ensaio no poço para o poço da amostra "S". **Devem ser adicionadas, exatamente, 4 gotas.** Não deixe a ponta do frasco tocar no dispositivo de modo a evitar a contaminação cruzada.

6

EN Interpret test results 5 - 20 minutes after adding assay diluent. Reading outside of this time frame (before 5 min or after 20 min) may provide false results.

FR Interpréter les résultats du test 5 à 20 minutes après l'ajout du diluant. Toute lecture en dehors de cette période (avant 5 minutes ou après 20 minutes) peut donner lieu à des résultats erronés.

ES Una vez transcurridos de 5 a 20 minutos de haber agregado el diluyente del ensayo, interprete los resultados. Leer el resultado fuera de ese marco de tiempo (antes de los 5 minutos o después de los 20 minutos) puede arrojar resultados falsos.

PT Interprete os resultados do teste 5 - 20 minutos após adicionar o diluente do ensaio. Efetuar a leitura fora deste intervalo de tempo (antes dos 5 minutos ou após os 20 minutos) pode fornecer resultados incorretos.



TEST INTERPRETATION / INTERPRÉTATION DU TEST / INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA / INTERPRETAÇÃO DO TESTE

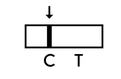
NON-REACTIVE / NON RÉACTIF / NO REACTIVO / NÃO-REATIVO

EN The presence of only the control line (C) within the result window indicates a non-reactive result.

FR La présence de la ligne de contrôle uniquement (C) dans la fenêtre de résultat indique un résultat non réactif.

ES Si solo aparece la línea de control (C) en la ventana de resultados, el resultado es no reactivo.

PT A presença apenas da linha de controlo (C) dentro da janela de resultados indica um resultado não reativo.



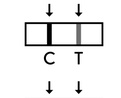
REACTIVE / RÉACTIF / REACTIVO / REATIVO

EN The presence of the test line (T) and the control line (C) within the result window, regardless of which line appears first, indicates a reactive result.
⚠ **Caution**: The presence of any test line, no matter how faint, the result is considered reactive.

FR La présence de la ligne de test (T) et de la ligne de contrôle (C) dans la fenêtre de résultat, quelle que soit la ligne apparue en premier, indique un résultat réactif.
⚠ **Mise en garde:** si la ligne de test est présente, même très pâle, le résultat est considéré comme réactif.

ES Si aparecen la línea de prueba (T) y la línea de control (C) en la ventana de resultados, independientemente del orden de aparición, el resultado es reactivo.
⚠ **Precaución:** La presencia de cualquier línea de prueba, aunque sea de un color débil, indica que el resultado es reactivo.

PT A presença da banda de teste (T) e da linha de controlo (C) dentro da janela de resultados, independentemente da linha que aparecer primeiro, indica um resultado reativo.
⚠ **Atenção:** a presença de qualquer linha de teste, mesmo sendo muito ténue, significa que o resultado é considerado reativo.



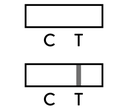
INVALID / NON VALIDE / NO VÁLIDO / INVÁLIDA

EN If the control line (C) is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. Instructions may not have been followed correctly or the test may have deteriorated. It is recommended that the specimen be retested using a new test device.

FR Si la ligne de contrôle (C) n'est pas visible dans la fenêtre de résultat après la réalisation du test, le résultat est considéré comme non valide. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test se soit détérioré. Il est recommandé d'analyser à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

ES Si no se ve la línea de control (C) en la ventana de resultados después de ejecutar la prueba, se considera que no hay un resultado válido. Esta situación puede deberse a que no se siguieron correctamente las instrucciones o a que la prueba se haya deteriorado. Se recomienda volver a analizar la muestra con un dispositivo de prueba nuevo.

PT Se a linha de controlo (C) não estiver visível dentro da janela de resultados após a realização do teste, o resultado é considerado inválido. As instruções podem não ter sido seguidas corretamente ou o teste pode ter-se deteriorado. Recomenda-se que a amostra seja novamente testada utilizando um novo dispositivo de teste.



Glossary of symbols / Glossaire des symboles / Glosario de símbolos / Glossário de símbolos

Temperature limitation Limitation de température Límite de temperatura Limite de temperatura	LOT Lot Number No. de lot Número de Lote Número de lote	Manufacturer Fabricant Fabricante Fabricante	Do not use if package is damaged Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé No utilizar si el envase está dañado Não utilizar se a embalagem estiver danificada
IVD For in vitro diagnostic use only Pour diagnostic in vitro uniquement Solo para uso de diagnóstico in vitro Somente para uso de diagnóstico in vitro	REF Catalog Number Code produit Número de Referencia Número de Catálogo	Date of manufacture Date de fabrication Fecha de fabricación Data de fabricaçao	Keep dry Conserver au sec Mantenganse seco Conservar seco
Do not reuse Usage unique No Reutilizar Não reutilizar	Instructions for use Attention, voir mode d'emploi Atención, ver Instrucciones de uso Atenção, ver Instruções de uso	Biological Risks Risques biologiques Riesgos biológicos Riscos biológicos	Caution Mise en garde Precaución Atenção
Use By Date de péremption Fecha de caducidad Utilizar até YYYY-MM-DD	Contains sufficient for (n) tests Permet de réaliser (n) tests Contenido suficiente para (n) pruebas Contém o suficiente para (n) testes	Keep away from sunlight Conserver à l'abri de la lumière du soleil Mantenganse fuera de la luz del sol Manter afastado da luz solar	

Abbott

REF 01FK10, 01FK11

Bioline™

HBsAg

HBsAg Rapid Test
Test rapide de détection de l'antigène HBs

ENGLISH

About the test
[Intended use] The Bioline™ HBsAg test is an *in vitro* immunochromatographic assay designed for qualitative determination of HBsAg in human serum or plasma. Bioline™ HBsAg is intended only for professional use as an aid to diagnosis. Reactive specimens should be confirmed by a supplemental assay. This kit is for *in vitro* diagnostic use only. This product suitable for use on pregnant women, but in case of neonates, we haven't yet to perform the test. This test may not be suitable for diagnosis of early infection or blood donation screening.
[Test principle] This test device contains a membrane strip, which is pre-coated with mouse monoclonal anti-HBs antibody on test band region. The mouse monoclonal anti-HBs-colloid gold conjugate and the specimen move along the membrane chromatographically to the test region (T) and forms a visible line as the antibody-antigen-antibody gold particle complex forms.

Materials provided
The Bioline™ HBsAg test kit contains the following items to perform the assay:
1. Bioline™ HBsAg [30 Tests/kit] Cat. No. 01FK10 :
- 30 Test devices with desiccant in individual foil pouches
- 1 Instructions for use
2. Bioline™ HBsAg [100 Tests/kit] Cat. No. 01FK11 :
- 10 Multi-test devices with desiccant in individual foil pouch x 10
- 1 Instructions for use

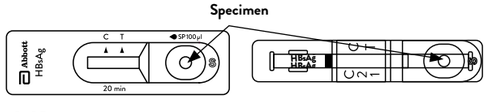
Materials required but not provided
- Micropipette

Kit storage and stability
1. The Bioline™ HBsAg should be stored between 1°C and 30°C. Do not freeze the kit.
2. The test device is sensitive to both heat and humidity. Perform the test immediately after removing the test device from the foil pouch.
3. Do not use the test kit beyond its expiration date.
4. The shelf-life of the kits is as indicated on the outer package.
5. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.

Specimen collection and storage
1. [Plasma] Collect the whole blood into the collection tube (containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture and then centrifuge blood to get plasma specimen. Anticoagulants such as heparin, EDTA, and citrate do not affect the test result.
2. [Serum] Collect the whole blood into the collection tube (NOT containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture, leave to settle for 30 minutes for blood coagulation and then centrifuge blood to get serum specimen of supernatant.
3. If plasma or serum specimens are not tested immediately, they should be refrigerated at 2~8°C. For storage period longer than 3 days, freezing(below -20°C) is recommended. They should be brought to 15~30°C prior to use.
4. Plasma or serum specimens containing a precipitate may yield inconsistent test results. Such specimens must be clarified prior to assaying.

Warnings
1. For *in vitro* diagnostic use only. Do not reuse the test device.
2. The instructions must be followed exactly to achieve accurate results. Any individual performing an assay with this product must be trained in its use and must be experienced in laboratory procedures.
3. Do not eat or smoke while handling specimens.
4. Wear protective gloves while handling specimens and wash hands thoroughly afterwards.
5. Avoid splashing or aerosol formation of specimen.
6. Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
7. Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials in a biohazard container as if they were infectious waste.

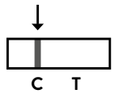
Test procedure
1. Allow all kit components and specimen to room temperature (between 15°C and 30°C) prior to testing.
2. Remove the test device from the foil pouch and place it on a flat, dry surface.
3. Dispense 100µl of plasma or serum specimen into the specimen well (Figure 1).
4. As the test begins to work, you will see purple color move across the result window in the center of the test device.
5. Interpret test results at 20 minutes.



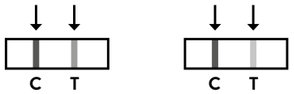
[Figure1]

SP 100 µl : Serum 100µl or Plasma 100µl

Test interpretation
1. A purple control band will appear in the left section of the results window to show that the test is working properly.
2. The right section of the results window indicates the test results. If another purple band appears in the right section of the results window, this is the test band.
- **Negative Result :** The presence of only control band (C) within the results window indicates a negative result.



- **Positive Result :** The presence of the test line (T) and the control line (C) within the results window, regardless of which band appears first, indicates a positive result.
⚠ **Caution:** The presence of any test line, no matter how faint, the result is considered positive.



- **Invalid Result :** If the control band (C) is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. Instructions may not have been followed correctly or the test may have deteriorated beyond the expiration date. It is recommended that the specimen be re-tested using a new test kit.



Test limitations
A negative result does not preclude the possibility of infection with HBV. Other clinically available tests are required if questionable results are obtained. As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

Internal quality control
The Bioline™ HBsAg test has a test line (T) and a control line (C) on the surface of the device. Neither the test line nor the control line is visible in the result window before applying a specimen. The control line is used for procedural control and shows only that the active ingredients of main components on the strip are functional, but is not a guarantee that the specimen has been properly applied and does not represent a positive specimen control.

Performance characteristics
The 276 specimens of WHO HBsAg panel that derived serum/plasma specimens from Africa, Asia, Europe and Latin America origin were tested on the Bioline™ HBsAg test kit. There were 98 HBsAg positive specimens and 178 HBsAg negative specimens. Each specimen was confirmed by commercial EIA tests, Hepanostika HBsAg Uniform II (Organon Teknika) and Monolisa Ag HBs Plus (BioRad Diagnostics).

Origin	HBsAg positive specimens	HBsAg negative specimens	Total
Africa	16	43	59
Asia	30	30	60
Europe	30	67	97
Latin America	22	38	60
Total	**98**	**178**	**276**

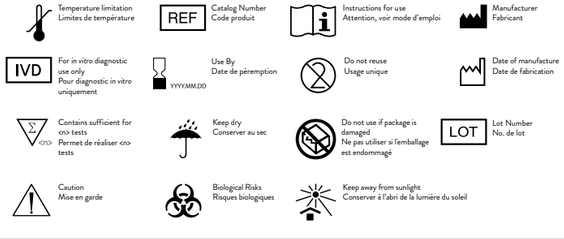
In this multi-site evaluation of 276 specimens, we found the relative sensitivity is 100% (98/98), the relative specificity is 100% (178/178). The results are summarized in the following tables.

Results		Bioline™ HBsAg			95% CI
		Positive	Negative	Total Results	
Reference	Positive (98)	98	0	98	96.2 - 100%
	Negative (178)	0	178	178	97.9 - 100%
Total		98	178	276	

Product Disclaimer:
While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the manufacturer and distributor and test results may accordingly be affected by environmental factors and/or user error. The subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the test result.

Warning:
The manufacturers and distributors of this product shall not be liable for any direct, indirect, or consequential losses, liability, claims, costs or damages arising from or related to an incorrect positive or negative diagnosis using this product.

GLOSSARY OF SYMBOLS / GLOSSAIRE DES SYMBOLES



FRANÇAIS

À propos du test
[Utilisation prévue] Bioline™ HBsAg est un test d'immunochromatographie *in vitro* conçu pour la détection qualitative de l'antigène HBs (AgHBs) dans le sérum ou le plasma humain. Il est réservé à un usage professionnel et doit être utilisé pour faciliter le diagnostic. Les résultats positifs doivent être confirmés par une autre méthode type. A utiliser en diagnostic *in vitro* uniquement. Ce produit convient à une utilisation chez les femmes enceintes mais n'a pas encore été testé chez les nouveau-nés. Ce test peut ne pas être adapté pour le diagnostic d'une infection précoce ou pour un dépistage en vue d'un don de sang.
[Principe du test] La cassette du test contient une membrane pré-enduite (ou sensibilisée) d'anticorps monoclonaux anti-HBs (produits par la souris) sur la zone « test ». Le conjugué colloïde-or constitué d'anticorps monoclonaux anti-HBs de souris et l'échantillon à tester se déplacent par chromatographie le long de la membrane pour atteindre la zone test « T ». Il se forme alors un complexe anticorps-antigène-anticorps (si l'échantillon contient l'AgHBs) visible sur la zone « test » par l'apparition d'une ligne colorée.

Matériels fournis
Le kit de Bioline™ HBsAg contient les articles suivants pour réaliser le test.
1. Bioline™ HBsAg [Kit de 30 tests] Cat. No. 01FK10 :
- 30 Cassettes-tests emballées individuellement avec un agent déshydratant
- 1 Mode d'emploi
2. Bioline™ HBsAg [Kit de 100 tests] Cat. No. 01FK11 :
- 10 Cassettes-tests emballées individuellement avec un agent déshydratant x 10
- 1 Mode d'emploi

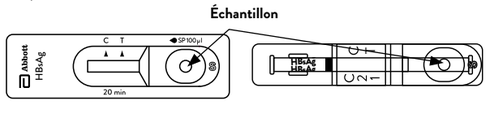
Matériel nécessaire mais non fourni
- Micropipette

Stockage et stabilité du kit
1. Le Bioline™ HBsAg doit être conservé à 1~30°C. Ne pas congeler les tests.
2. La cassette du test est sensible à l'humidité et à la chaleur. Effectuer le test immédiatement après avoir enlevé la cassette de son emballage.
3. Ne pas l'utiliser la cassette après la date d'expiration.
4. La durée de conservation du kit est indiquée sur l'emballage externe.
5. Ne pas utiliser le test si le sachet est endommagé ou l'emballage est déchirée

Prélèvement et manipulation des échantillons
1. [Plasma] Prélever le sang total dans le tube de prélèvement (contenant des anticoagulants tels que l'héparine, l'EDTA et le citrate de sodium) par ponction veineuse puis centrifuger le sang pour obtenir un échantillon de plasma. Les anticoagulants tels que l'EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique), le citrate de sodium ou l'héparine, n'affectent pas les résultats.
2. [Sérum] Prélever le sang total dans le tube de prélèvement (ne contenant PAS d'anticoagulants tels que l'héparine, l'EDTA et le citrate de sodium) par ponction veineuse, laisser reposer pendant 30 minutes pour la coagulation du sang puis centrifuger le sang pour obtenir un échantillon de sérum dans le surnageant.
3. Si les échantillons de plasma ou de sérum ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés à une température comprise entre 2 et 8°C. Pour une période de stockage supérieure à 3 jours, la congélation (en dessous de -20°C) est recommandée. Les chantillons doivent être amenés à température ambiante avant utilisation.
4. Les échantillons de plasma ou de sérum contenant un aprécipité peuvent produire des résultats de test incohérents. Ces échantillons doivent être clarifiés avant le test.

Avertissements
1. Test destiné pour usage diagnostique *in vitro* uniquement. Ne pas réutiliser le dispositif de test.
2. Suivre scrupuleusement les instructions pour garantir l'exactitude des résultats. Toute personne voulant réaliser ce test doit être formée et avoir l'expérience nécessaire en matière de procédures de laboratoire.
3. Ne pas manger ou fumer pendant la manipulation des échantillons.
4. Porter des gants pendant la manipulation des échantillons. Se laver les mains après.
5. Éviter les éclaboussures ou la formation d'aérosol des échantillons.
6. Nettoyer les éclaboussures avec un désinfectant approprié.
7. Décontaminer et mettre au rebut tous les échantillons, kits de réaction et matériaux potentiellement contaminés dans un conteneur pour déchets dangereux.

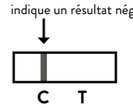
Procédure de test
1. Ramener tous les composants du kit et les échantillons à température ambiante (15~30°C) avant de commencer.
2. Retirer la cassette de son sachet d'aluminium et le placer sur une surface plane et sèche.
3. Ajouter 100 µl de plasma ou sérum dans le puits échantillon (Figure 1).
4. Dès que le test commence à fonctionner, vous observerez une couleur pourpre qui se déplace dans la fenêtre de résultat au milieu de la cassette.
5. Interpréter les résultats à 20 minutes.



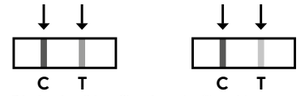
[Figure1]

SP 100 µl : 100 µl de plasma ou de sérum

Interprétation du test
1. Une bande colorée sur la ligne "C" dans la fenêtre de résultat indique que le test fonctionne correctement. Cette bande est la bande de contrôle (bande"C").
2. Le résultat de l'analyse est situé sur la partie droite du test rapide. Si une bande colorée apparaît dans cette partie, cette bande correspond à la Bande du Test. (bande"T")
- **Résultat négatif :** La présence d'une seule bande (bande"C") colorée dans la fenêtre de résultat indique un résultat négatif.



- **Résultat positif :** La présence de deux bandes colorées (bande "T" et bande "C") dans la fenêtre de résultat, quel que soit la bande qui apparaît premièrement indique un résultat positif.
⚠ **Mise en garde:** si la ligne de test est présente, même très pâle, le résultat est considéré comme positif.



- **Résultat invalide t:** Si après avoir effectué le test aucune bande de couleur pourpre (bande"C") n'est visible dans la fenêtre Résultat, le résultat est considéré comme invalide. La procédure n'a peut-être pas été correctement suivie ou le test est peut-être endommagé. Il est recommandé de réaliser un nouveau test sur l'échantillon.



Limites du test
Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'infection par le VHB. D'autres paramètres cliniques et biologiques sont nécessaires si le résultat est douteux. Comme pour tous les tests de dépistage, un diagnostic définitif ne doit être fondé sur les résultats d'un seul test, mais doit être confronté par le médecin avec des arguments cliniques et d'autres examens de laboratoire.

Contrôle de qualité interne
Le test rapide Bioline™ HBsAg contient les lettres T et C à sa surface pour, respectivement, « ligne Test » et « ligne de Contrôle ». Les lignes Test et Contrôle ne sont pas visibles dans la fenêtre de résultat avant d'introduire l'échantillon. La ligne de Contrôle est utilisée pour vérifier le suivi des procédures du test. La ligne de control du TDR démontre uniquement si les ingrédients actifs des composants principeaux de la bandelette sont fonctionels, par contre elle ne garantie nullement si l'échantillon est appliqué proprement, et ne représente pas une contrôle positif.

Caractéristiques de performance
Les 276 échantillons du panel HBsAg de l'OMS qui sont dérivés des échantillons de sérum/plasma provenant d'Afrique, d'Asie, d'Europe et d'Amérique du Sud ont été testés sur le kit de test Bioline™ HBsAg. Il y a eu 98 échantillons positifs à l'HBsAg et 178 échantillons négatifs à l'HBsAg. Chaque échantillon a été confirmé par des tests immunoenzymatiques (EIA) disponibles dans le commerce, Hepanostika HBsAg Uniform II (Organon Teknika) et Monolisa Ag HBs Plus (BioRad Diagnostics).

Origine	Echantillon AgHBs positif	Echantillon AgHBs négatif	Total
Afrique	16	43	59
Asie	30	30	60
Europe	30	67	97
Amérique Latine	22	38	60
Total	**98**	**178**	**276**

Pour cette évaluation multicentrique de 276 échantillons, nous avons obtenu une sensibilité relative de 100% (98/98) et une spécificité relative de 100% (178/178). Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Résultats		Bioline™ HBsAg			95% CI
		Positif	Négatif	Résultat Total	
Test de Référence	Positif (98)	98	0	98	96.2 - 100%
	Négatif (178)	0	178	178	97.9 - 100%
Total		98	178	276	

Clause de non responsabilité:
Bien que toutes les précautions soient prises pour assurer le fonctionnement et la précision du diagnostic de ce produit, il n'est pas utilisé sous le contrôle du Fabricant et du Distributeur. Le résultat peut donc être affecté par des facteurs environnementaux et/ou une erreur d'utilisation. Il est fortement recommandé de consulter un médecin pour confirmer le résultat du test.

Attention:
Les Fabricants et Distributeurs de ce produit ne sont en aucun cas responsables des pertes, responsabilité, revendications, coût ou dommages, directs ou indirects, conséquents ou reliés à un diagnostic erroné, positif ou négatif, lors de l'utilisation de ce produit.

Bibliography of suggested reading / Bibliographie suggérée

1. Blumberg, B.S. The Discovery of Australian Antigen and its relation to viral hepatitis. Vitro. 1971; 7: 223
2. Sato K., Ichiyama S., Iinuma Y., Nada T., Shimokata K., Nakashima N., Evaluation of immunochromatographic assay systems for rapid detection of hepatitis B surface antigen and antibody, Dainascreen HBsAg and Dainascreen Ausab, J Clin Microbiol, 1996; 34(6) : 1420-2.
3. Epidemiologic Notes and Reports, Hepatitis B Contamination in a Clinical Laboratory-Colorado, MMWR 29 :459, 1980
4. David D.S., Present W., Martinls J., Wang R., Batholomew R., Desmond W. and Sevier E.D. : Monoclonal antibodies in the detection of hepatitis infection. Med. Lab. Sci. 38: 341-348, 1981

Date Issued : 2020. 01
01FK10/01FK11-04-A0

Abbott Diagnostics Korea Inc.
65, Borahagal-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, 17099, Republic of Korea
Tel : 82-31-899-2800 | Fax : 82-31-899-2840
abbott.com/poct

© 2020 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

REF 01FK10, 01FK11

Abbott

Bioline™

HBsAg

Prueba de HBsAg
Teste rápido de HbsAg

ESPAÑOL

Acerca de la prueba

[Uso previsto] La prueba de Bioline™ HBsAg es un análisis inmuno-cromatográfico *in vitro* diseñado para la determinación cualitativa de HBsAg en suero o plasma humano. Bioline™ HBsAg es exclusivamente para uso profesional como ayuda para el diagnóstico. Las muestras reactivas deben ser confirmadas mediante pruebas suplementarias. Este kit es para uso diagnóstico *in vitro* únicamente. Este producto es adecuado para mujeres embarazadas, pero aún no se ha probado con neonatos. Es posible que esta prueba no sea apta para el diagnóstico temprano de la infección o para el análisis de donación de sangre.
[Principio de la prueba] Este casete de prueba contiene una tira de membrana que está pre-impregnada con anticuerpos de ratones monoclonales anti-HBs en la región de la banda de prueba. El conjugado de oro coloidal de ratones monoclonales anti-HBs y la muestra se mueve cromatográficamente lo largo de la membrana a la región de prueba (T) y forma una línea visible como una forma compleja de partículas de oro de anticuerpo-antígeno-anticuerpo.

Materiales suministrados

El kit de Bioline™ HBsAg contiene los siguientes artículos para realizar el análisis.
1. Bioline™ HBsAg [30 pruebas/kit] Cat. No. 01FK10 :
- 30 Dispositivos de prueba en bolsas individuales con secant
- 1 Instrucciones de uso
2. Bioline™ HBsAg [100 pruebas/kit] Cat. No. 01FK11 :
- 10 Dispositivos de prueba en bolsas individuales con secant x 10
- 1 Instrucciones de uso

Materiales requeridos pero no suministrados

- Micropipeta

Conservación y estabilidad del kit

1. Bioline™ HBsAg se debería almacenar a 1~30°C. No congele ni el kit.
2. El dispositivo de prueba es sensible a la humedad, así como también al calor. Realice la prueba inmediatamente después de sacar el dispositivo de prueba de la bolsa de papel aluminio.
3. No lo use más allá de la fecha de expiración.
4. El periodo de validez del kit se indica en el embalaje externo.
5. No emplee el kit de prueba si la bolsa está dañada o rota.

Recogida y conservación de la muestra

1. [Plasma] Recoja la sangre completa en el tubo colector (que contiene anticoagulantes como heparina, EDTA y citrato de sodio por venipuntura y luego centrifugue la sangre para obtener una muestra del plasma. Los anticoagulantes como la heparina, el ácido etilendiaminotetracético y el citrato no afectan el resultado de la prueba.
2. [Suero] Recoja la sangre completa en el tubo colector (que no contiene anticoagulantes como heparina, EDTA y citrato de sodio) por venipuntura, deje reposar por 30 minutos para que la sangre se coagule y luego centrifugue para obtener una muestra de suero del sobrenadante.
3. Si las muestras de plasma o suero no se van a analizar inmediatamente, deben refrigerarse a una temperatura de entre 2 y 8°C. Si las muestras se van a almacenar durante más de 3 días, se recomienda congelarlas (por debajo de -20°C). Deben estar a temperatura ambiente (entre 15 y 30°C) antes de utilizarlas.
4. Las muestras de plasma o suero que contengan precipitados pueden dar resultados inconsistentes. Tales muestras deberían aclarase ante de examinarlas.

Advertencias

1. Para uso de diagnóstico *in-vitro* solamente. No reusar el dispositivo de prueba.
2. Las instrucciones deben ser seguidas con exactitud para obtener resultados exactos. Cualquier persona que realice un ensayo con este producto debe estar entrenado para su uso y debe tener experiencia en procedimientos del laboratorio.
3. No ingerir alimentos ni fumar mientras se manipulan las muestras.
4. Utilizar guantes protectores mientras se manejan las muestras. Lavarse las manos debidamente después de la manipulación de las muestras.
5. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles de la muestra.
6. Limpiar los derrames totalmente utilizando un desinfectante adecuado.
7. Descontaminar y eliminar todas las muestras, kits de reacción y materiales potencialmente contaminados como si fuesen desechos infecciosos, dentro de un recipiente de bioseguridad.

Procedimiento de la prueba

1. Espere hasta que todos los componentes del equipo estén a temperatura ambiente (15 y 30°C) antes de realizar la prueba.
2. Remueva el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio y colóquelo sobre una superficie plana y seca.
3. Añada 100µl de plasma o suero en el pozo de muestra (Figura 1).
4. Tan pronto empiece la prueba, usted verá un color púrpura moviéndose a lo largo de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de prueba.
5. Interprete los resultados de la prueba en 20 minutos.

Muestra



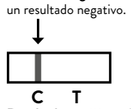
[Figure1]

SP 100 µl : 100 µl de plasma o suero

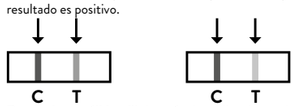
Interpretación de la prueba

1. Una banda de color aparecerá en la sección izquierda de la ventana de resultados para mostrar que la prueba está funcionando apropiadamente. Esta banda es la banda de control ("C").
2. La sección derecha de la ventana de resultados indica los resultados de la prueba. Si aparece otra banda de color en la sección derecha de la ventana de resultados, esta es la banda de prueba ("T").

- **Resultado negativo :** La presencia de una sola banda ("C") dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.



- **Resultado positivo :** La presencia de dos bandas de color ("T" y "C") dentro de la ventana de resultados, sin importar cuál aparece primero, indica un resultado positivo.
⚠ **Precaución:** La presencia de cualquier línea de prueba, aunque sea de un color débil, indica que el resultado es positivo.



- **Resultado no válido :** Si después de realizar la prueba no se ve una banda de color púrpura ("C") en la ventana de resultados, el resultado se considera no válido. Puede que las direcciones para la prueba no se hayan seguido correctamente, o la prueba puede haberse deteriorado. Se recomienda repetir la prueba con esta muestra.



Limitación de la prueba

Un resultado negativo no excluye la posibilidad de una infección con HBV. Se requieren otros exámenes clínicos disponibles si se obtienen resultados cuestionables. Como ocurre con todas las pruebas para diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no se debería basar solamente en el resultado de una prueba individual, pero debería ser hecho por un médico, después que se hayan evaluado los resultados clínicos y de laboratorio.

Control de calidad interno

El dispositivo de prueba Bioline™ HBsAg tiene una letra de T y C como "Línea de prueba" y "Línea de control" en la superficie de la caja. Tanto la línea de prueba como la línea de control en la ventana de resultados no son visibles antes de aplicar cualquier muestra. La línea de control se usa como control del proceso. La línea de control siempre aparecerá si los reactivos de la prueba están funcionando bien. La línea de control no garantiza que la muestra se haya aplicado correctamente o que la muestra fue almacenada correctamente.

Características de desempeño

Las 276 muestras del grupo de pruebas analíticas de la OMS para determinar los niveles de HBsAg que se obtuvieron de muestras de suero/plasma procedentes de África, Asia, Europa y América Latina se analizaron con el kit de prueba Bioline™ HBsAg. En total hubo 98 muestras positivas para HBsAg y 178 muestras negativas para HBsAg. Cada muestra se confirmó con pruebas de enzimoinmunoanálisis disponibles en el mercado, Hepanostika HBsAg Uniform II (Organon Teknika) y Monolisa Ag HBs Plus (BioRad Diagnostics).

Origen	HBsAb muestras positivas	HBsAg muestras negativas	Total
Africa	16	43	59
Asia	30	30	60
Europa	30	67	97
Latinoamérica	22	38	60
Total	**98**	**178**	**276**

En esta evaluación de múltiples lugares de 276 muestras, encontramos que la sensibilidad relativa es de 100% (98/98), la especificidad relativa es de 100% (178/178).

Resultados		Bioline™ HBsAg			95% CI
		Positivo	Negativo	Total	
Referencia	Positivo (98)	98	0	98	96.2 - 100%
	Negativo (178)	0	178	178	97.9 - 100%
Total		98	178	276	

Limitación de responsabilidad:
Aunque se hayan tomado todas las precauciones para garantizar la eficacia de diagnóstico y la precisión de este producto, su uso queda fuera del control del Fabricante y el Distribuidor; por consiguiente, el resultado puede verse afectado por factores medioambientales y/o errores del usuario. Una persona sometida al diagnóstico debe consultar con un médico para mayor confirmación del resultado.

Advertencia:
Los Fabricantes y Distribuidores de este producto no serán responsables ante cualquier pérdida, reclamo, costo o daño ya sea directo o indirecto o que resulte como consecuencia de o con relación a un diagnóstico incorrecto, ya sea positivo o negativo, en el uso de este producto.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS / GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS



PORTUGUÊS

Acerca do teste

[Uso Destinado] O teste Bioline™ HBsAg é um teste imunocromatográfico *in vitro* designado para determinação qualitativa de HbsAg em soro ou plasma humano. O Bioline™ HBsAg destina-se apenas a utilização profissional como teste auxiliar no diagnóstico. As amostras reativas deverão ser confirmadas por um ensaio suplementar. Este kit destina-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*. Este produto pode ser utilizado em mulheres grávidas, mas não deve ser utilizado em recémnascidos, uma vez que ainda não efetuamos qualquer teste.
[Princípio do Teste] Esta fita de teste contém uma tira de membrana que é pré-coberta com anticorpo de captura monoclonal de rato anti-HBs na região de linha de teste. O rato monoclonal anti-HBs-ouro coloidal conjugado e amostra se move ao longo da membrana cromatograficamente para a região do teste e origina uma linha visível quando se forma o complexo de partícula dourada anticorpo-antígeno-anticorpo.

Materiais fornecidos

No kit de Bioline™ HbsAg contém os seguintes itens para a realização da análise.
1. Bioline™ HBsAg [30 Testes/kit] Cat. No. 01FK10 :
- 30 Dispositivos de teste embalados individualmente numa bolsa de alumínio com um dessecante
- 1 Instruções de utilização
2. Bioline™ HBsAg [100 Testes/kit] Cat. No. 01FK11 :
- 10 Dispositivos de teste embalados individualmente numa bolsa de alumínio com um dessecante x 10
- 1 Instruções de utilização

Materiais requeridos porém não fornecidos

- Micropipeta

Armazenamento e estabilidade do kit

1. O Bioline™ HbsAg deve ser conservado em 1~30°C. Não congelar o kit ou seus componentes.
2. O dispositivo de teste é sensível à umidade e ao calor. Executar o teste imediatamente depois de retirar o dispositivo de teste da embalagem.
3. Não usar produtos com data de validade vencidos.
4. A data de validade do kit é a indicada na embalagem exterior.
5. Não usar o kit de teste se a embalagem estiver danificada ou se o selo estiver violado.

Recolha de espécimes e armazenamento

1. [Plasma] Faça a colheita do sangue total para o tubo de colheita (que contém anticoagulantes como a heparina, EDTA e citrato de sódio) por venopunção e depois centrifugue o sangue para obter a amostra de plasma. Os anticoagulantes como a heparina, EDTA e citrate não afectam o resultado do teste.
2. [Soro] Faça a colheita do sangue total para o tubo de colheita (que NÃO contém anticoagulantes como a heparina, EDTA e citrato de sódio) por venopunção, deixe repousar durante 30 minutos para permitir a coagulação do sangue e depois centrifugue o sangue para obter a amostra de soro de sobrenadante.
3. Se as amostras de plasma ou soro não forem testadas imediatamente, devem ser refrigeradas a 2~8°C. Para um período de armazenamento superior a 3 dias, recomenda-se a congelação (inferior a -20°C). Devem ser colocadas à 15~30°C antes da utilização.
4. As amostras de plasma ou soro que contenham um precipitado podem conduzir a resultados inconsistentes. Estas amostras têm de ser clarificadas antes de serem analisadas.

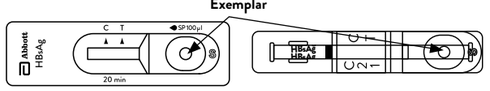
Advertências

1. Somente para uso em diagnóstico *in vitro*. Não volte a utilizar o dispositivo de teste.
2. As instruções devem ser rigorosamente respeitadas para obter resultados exatos. Os utilizadores que realizarem ensaios com este produto devem ter formação e experiência em procedimentos laboratoriais.
3. Não comer ou fumar durante a manipulação das amostras.
4. Usar luvas de proteção durante a manipulação das amostras. Lavar completamente as mãos após o procedimento.
5. Evitar respingos ou formação de aerosol.
6. Limpar completamente os extravasamentos usando desinfetantes apropriados.
7. Descontaminar e descartar todas as amostras, kits de reação e materiais potencialmente contaminados, como se fossem lixo contaminado, em recipientes de risco biológico.

Procedimentos do teste

1. Coloque todos os componentes e espécimes do kit à temperatura ambiente (15~30°C) antes de realizar o teste.
2. Remover o dispositivo de teste da embalagem e colocá-lo em uma superfície plana e seca.
3. Adicionar 100µl de plasma ou soro dentro do exemplar (Figura 1).
4. Assim que o teste começa a reagir, será possível observar uma cor roxa se movendo ao longo da tela de resultados localizada no centro do dispositivo de teste.
5. Interpretar o resultado do teste em 20 minutos.

Exemplar



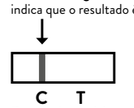
[Figura1]

SP 100 µl : 100µl de plasma ou soro

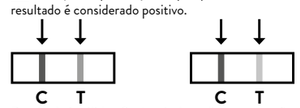
Interpretação do teste

1. Uma linha colorida aparece na parte esquerda da tela de resultados, para mostrar que o teste está sendo realizado adequadamente. Esta linha é a Linha de Controle (linha "C").
2. A parte direita da tela de resultados indica o resultado do teste. Se uma outra linha colorida aparece na parte direita da tela de resultados, esta será a Linha do Teste (linha "T").

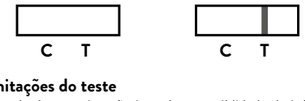
- **Resultado negativo:** A presença apenas de uma linha cor roxa (linha "C") dentro da tela de resultado indica que o resultado é negativo.



- **Resultado positivo:** A presença de 2 linhas coloridas (linha "T" e linha "C") dentro da tela de resultado, independente de qual linha aparece primeiro, indica que o resultado é positivo.
⚠ **Atenção:** a presença de qualquer linha de teste, mesmo sendo muito ténue, significa que o resultado é considerado positivo.



- **Resultado inválido :** Se depois de realizar o teste não aparecer nehuma linha visível com cor roxa (linha "C") dentro da tela de resultado, o resultado é considerado inválido. As direções podem não ser seguidas corretamente ou o teste pode estar deteriorado. Recomenda-se repetir o teste da amostra.



Limitações do teste

O resultado negativo não impede a possiblidade da infecção por VBH. Outros testes disponíveis clinicalmente são exigidos se são obtidos resultados duvidosos. Como em todos os testes de diagóstico, um diagóstico clínico definitivo não pode ser baseado no resultado de um teste único, mas deve ser realizado somente por um médico depois de ser avaliado todos os resultados clínicos e laboratoriais.

Controlo interno de qualidade

O dispositivo de teste Bioline™ HBsAg Rapid inclui as letras T e C, que significam "Linha de teste" e "Linha de controlo", na superfície da embalagem. A "Linha de teste" e a "Linha de controlo" só ficam visíveis na janela do resultado após a aplicação de uma amostra. A "Linha de controlo" é utilizada para controlar o procedimento. A linha de controlo do TDR (Teste de Diagnóstico Rápido) apenas mostra que os ingredientes activos dos componentes principais da tira era ainda funcional, mas não é uma garantia da amostra ter sido devidamente aplicado e não representa uma amostra positiva de control.

Características de desempenho

As 276 amostras do painel HBsAg da OMS que derivaram de amostras de soro/plasma provenientes de África, Ásia, Europa e América Latina foram testadas no kit de teste Bioline™ HBsAg. Obtiveram-se 98 amostras positivas de HBsAg e 178 amostras negativas de HBsAg. Cada amostra foi confirmada por testes EIA comerciais, Hepanstika HBsAg Uniform II (Organon Teknika) e Monolisa Ag HBs Plus (BioRad Diagnostics).

Origem	Amostras positivas de HBsAg	Amostras negativas de HBsAg	Total
África	16	43	59
Ásia	30	30	60
Europa	30	67	97
América Latina	22	38	60
Total	**98**	**178**	**276**

Nessa avaliação multi-site de 276 amostras, a sensibilidade relativa encontrada é de 100% (98/98), e a especificidade é de 100% (178/178). Os resultados são resumidos no seguinte quadro.

Results		Bioline™ HBsAg			95% CI
		Positivo	Negativo	Resultado total	
Reference	Positivo (98)	98	0	98	96.2 - 100%
	Negativo (178)	0	178	178	97.9 - 100%
Total		98	178	276	

Termo de responsabilidade:
Enquanto foram tomadas precauções para assegurar a capacidade e precisão do diagnóstico deste produto, o produto é utilizado fora do controlo do Fabricante e o Distribuidor e o resultado poderá ser afectado por fatores ambientais e/ou erro do utilizador. Uma pessoa que esteja sujeita ao diagnóstico deverá procurar um médico para obter uma confirmação posterior do resultado.

Aviso:
Os Fabricante e Distribuidores deste produto não se responsabilizam por quaisquer perdas, fiabilidade, queixas, custos ou danos, quer resultantes directa ou indiretamente, consequenciais provocados ou relacionados com um diagnóstico incorrecto, quer positivo, quer negativo ao utilizar este produto.

Date Issued : 2020. 01
01FK10/01FK11-04-A0

Bibliografía de lecturas sugeridas / Referências bibliográficas

1. Blumberg, B.S. The Discovery of Australian Antigen and its relation to viral hepatitis. Vitro. 1971; 7: 223
2. Sato K., Ichiyama S., Iinuma Y., Nada T., Shimokata K., Nakashima N., Evaluation of immunochromatographic assay systems for rapid detection of hepatitis B surface antigen and antibody, Dainascreen HBsAg and Dainascreen Ausab, J Clin Microbiol, 1996; 34(6) : 1420-2.
3. Epidemiologic Notes and Reports, Hepatitis B Contamination in a Clinical Laboratory-Colorado, MMWR 29 :459, 1980
4. David D.S., Present W., Martinls J., Wang R., Batholomew R., Desmond W. and Sevier E.D. : Monoclonal antibodies in the detection of hepatitis infection. Med. Lab. Sci. 38: 341-348, 1981

Abbott Diagnostics Korea Inc.
65, Borahagal-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, 17099, Republic of Korea
Tel : 82-31-899-2800 | Fax : 82-31-899-2840
abbott.com/poct

© 2020 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

HIDRÓXIDO DE POTASIO AL 10%

Solución para la determinación de estructuras fúngicas.

IVD

REF	Código	Presentación
	07773	100 mL

PRINCIPIO

El Hidróxido de Potasio al estar en contacto con la muestra, destruye estructuras como queratina de cabello, uñas y piel logrando digerir el material proteico y permitiendo observar con mayor nitidez los elementos fúngicos. El hidróxido de potasio destruye todas las células no micóticas, lo cual hace más fácil ver si hay cualquier hongo presente. Su efecto de clarificar puede incrementarse al calentar a la llama ligeramente la preparación.
Brinda información presuntiva o preliminar al ser una prueba rápida, que puede ser útil al clínico y en algunos casos llegar a ser diagnóstica. Esta prueba no sustituye el cultivo.

CONTENIDOS

R 1 **HIDRÓXIDO DE POTASIO AL 10%**
Potasio Hidróxido RA, Agua Desmineralizada

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conservado entre 15°C y 30°C y protegido de la luz, estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Solo para uso diagnóstico profesional in vitro.
- Se debe leer y seguir cuidadosamente las instrucciones del procedimiento de ensayo con el objeto de realizarlo en forma correcta.
- No utilice el reactivo si hay evidencia de deterioro.
- Todas las muestras deberían considerarse potencialmente peligrosas y manipularse como si se tratara de un medio infeccioso.
- Una vez utilizado, debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Gradilla
- Tubos de ensayo
- Laminas porta-objetos
- Laminillas cubre-objetos
- Gotero
- Cámara húmeda
- Microscopio

MUESTRAS

La muestra a utilizar debe ser un raspado directo de la lesión de piel.

PROCEDIMIENTO

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizará el ensayo. El gotero a utilizar debe estar limpio y libre de residuos para no contaminar el reactivo.

1. Colocar una gota del Hidróxido de Potasio al 10% en el centro de un portaobjetos limpio.
2. Ubicar la muestra en el Hidróxido de Potasio al 10% y cubrir con cubreobjetos.
3. Se hace una cámara húmeda para que no se seque la preparación (caja de petri con algodón impregnado en agua destilada).
4. Dejar digerir 20 minutos. El efecto aclarante se acelera calentando la preparación suavemente a la llama hasta el desprendimiento de las primeras burbujas.
5. Si el resultado es negativo, volver a leer a las 24 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Se pueden observar las siguientes estructuras:

Blastoconidias
Estructura redondeada u ovalada refringente.

Artroconidias
Hifas alargadas con septos. Conidias tálicas, que resultan de la fragmentación o lisis de una hifa vegetativa, se separa por tabicamiento.

Micelios
Estructura micótica (varias hifas) con gemación.

Pseudomicelios
Hilera de células micóticas que resulta de la brotación de un blastoconidio que ha permanecido unido a los demás.

CONTROL DE CALIDAD

Observar que que el reactivo no presente turbidez.
Para esto se recomienda revisar periódicamente el reactivo, poner una gota en una lámina portaobjetos, cubrir con laminilla y observar al microscopio en 10X y 40X, verificar que el reactivo no se haya contaminado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Salud, Microbiología médica 1998
2. VILLATA CORREL JJ,2005, Micosis Cutáneas, Panamericana.
3. EREDIA P. K, 2015, Aislamiento e identificación de la Taxa levaduras presentes en el fruto de taxo con capacidad fermentiva y resistencia alcohólica, Universidad Salesiana -Quito.

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

2016-08v1

Hisopo
Transporte de Microbiología

Ficha Técnica



Dimensiones y Especificaciones

VARILLA

Material: Poliestireno

Diámetro: 2.5mm - **Longitud:** 150mm

CABEZA

Flocado denylon
Absorción de agua ≥0.11ml

Diámetro: 1mm

Etiqueta Impresa: Nombre del fabricante, especificación del producto, esterilización, LOTE, CAD, marcador de un solo uso, información clínica como nombre del paciente, edad, fecha de recolección, etc. Cada producto individual se pega con una etiqueta adicional y también se empaqueta de forma invidual.

Duración: 24 Meses.

Esterilización: Esterilización por irradiación.

Certificaciones de materias primas: Todas las materias primas utilizadas son no tóxicas, con certificación médica y alimentaria.

Embalaje: (1Unidad/Bolsa)

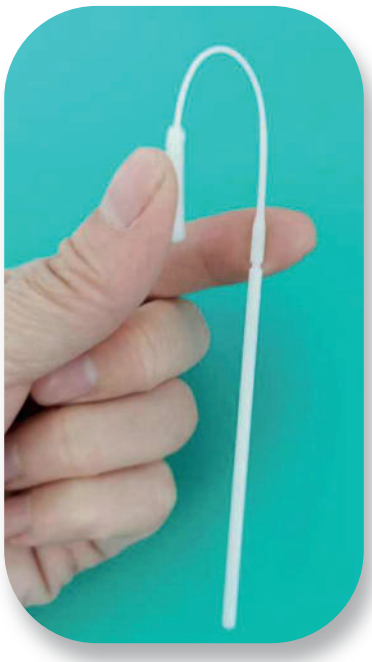
Cada bolsa y caja lleva la siguiente información en ingles: Nombre del fabricante, producto especificación, esterilización, LOTE, EXP, Marcador de un solo uso, información clínica nombre del paciente, edad, fecha de recolección ect.

Destino de uso: El hisopo de transporte microbiológico está destinado a la recolección de muestras clínicas que contienen microorganismos patógenos desde el sitio de recolección hasta el laboratorio de pruebas. El Producto debe ser utilizado por un personal profesionalmente calificado.

Almacenamiento y conservación: Debe almacenarse en una habitación ventilada que tenga una temperatura de 5-25℃ y humedad relativa por debajo del 80%, y sin gas corrosivo.

Modalidad de eliminación: Antes del uso, los productos deben considerarse material no peligroso: 94/62 / CE. Después del uso se convierten en desechos médicos potencialmente infectados que deben recogerse y eliminarse aplicando todas las precauciones particulares para evitar infecciones: 94/62 / CE.

Compatibilidad: El producto no necesita trabajar junto con otros accesorios.



ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA LÁMINAS PORTAOBJETOS CAT. 7101 CAJA X 50	CÓDIGO: FT-CID-122
		VERSIÓN: 2
		FECHA: 19/Abr/2023

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

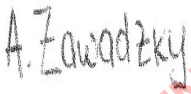
CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
08408	Caja x 50 Unidades

MATERIAL	
Vidrio  	
DIMENSIÓN	• Longitud: 76,2 mm • Ancho: 25,4 mm • Espesor: 1,0 - 1,2 mm • Color: Transparente
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Una lámina portaobjeto es una pieza delgada plana de vidrio que se utiliza para fijar muestras que posteriormente serán examinadas con un microscopio. Las láminas portaobjeto IHR Diagnóstica están cortadas con esquinas a 90°, bordes pulidos (reduce el riesgo de cortes al usuario) e interfoliadas con papel. Están listas para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlas y tomar medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
REUSO	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.

COPIA DE DOCUMENTO

ELIMINACIÓN
• Si el artículo ha tenido contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico. • Si el artículo no ha tenido contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	03/Ene/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución
2	19/Abr/2023	Se Incluye fotografía del producto.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 19/Abr/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 19/Abr/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 19/Abr/2023	 **Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera **Cargo:** Gerente **Fecha:** 21/Abr/2023

COPIA DE DOCUMENTO

ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA LÁMINAS PORTAOBJETOS B/MATE CAT. 7105 CAJA X 50	CÓDIGO: FT-CID-158
		VERSIÓN: 1
		FECHA: 19/Abr/2023

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
08406	Caja x 50 Unidades

MATERIAL	
Vidrio  	
DIMENSIÓN	• Longitud: 76,2 mm • Ancho: 25,4 mm • Espesor: 1,0 - 1,2 mm • Color: Transparente con banda mate en un extremo por un lado.
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Una lámina portaobjeto es una pieza delgada plana de vidrio que se utiliza para fijar muestras que posteriormente serán examinadas con un microscopio. Las láminas portaobjeto IHR Diagnóstica están cortadas con esquinas a 90°, bordes pulidos (reduce el riesgo de cortes al usuario) e interfoliadas con papel. Están listas para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlas y tomar medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
REUSO	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.

COPIA DE DOCUMENTO

ELIMINACIÓN
• Si el artículo ha tenido contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico. • Si el artículo no ha tenido contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	19/Abr/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 19/Abr/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 19/Abr/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 19/Abr/2023	 **Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera **Cargo:** Gerente **Fecha:** 21/Abr/2023

COPIA DE DOCUMENTO

IHR Diagnóstica
REACTIVOS PARA USO IN VITRO
Calidad y Confianza desde 1970

FICHA TECNICA

LAMINILLAS CUBREOBJETOS

Descripción: Laminilla cubreobjetos para uso en microscopia

Presentación: Caja x 100 unds

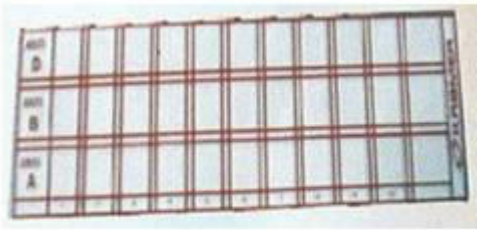
Material: vidrio

Medidas: 22 mm x 22 mm

Aplicación: Laboratorio clínico, Patológico, Citohistología, Investigación, Veterinario. Instituciones educativas con laboratorio de biología, bioquímica, bacteriología, Botánica, microbiología, etc.



IMCOLMEDICA S.A.®
IMPORTADORA COLOMBIANA DE ELEMENTOS MÉDICOS

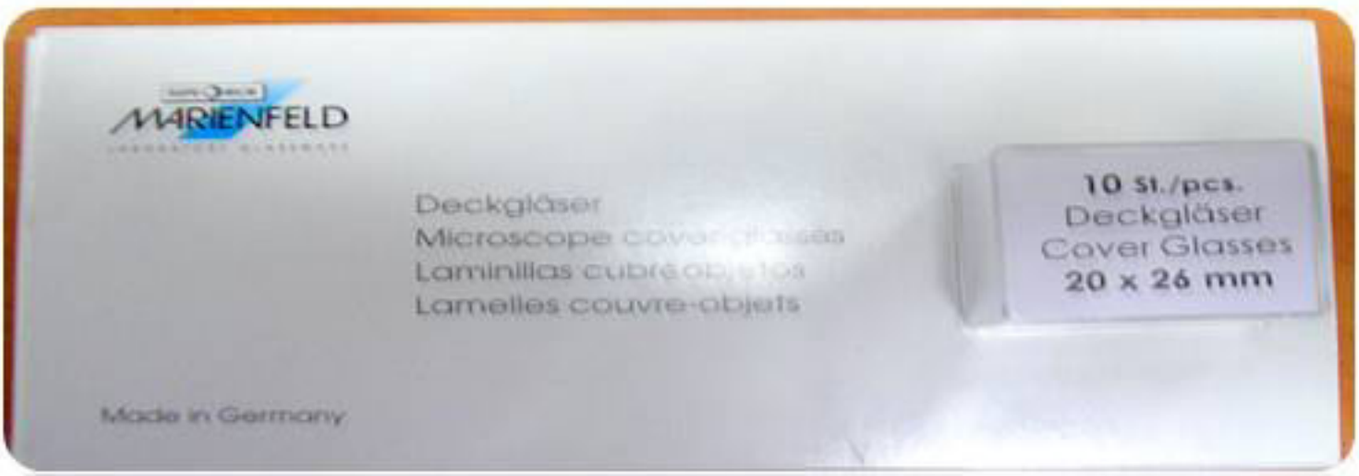


NOMBRE	LAMINA PARA R.H. (ANTI A.B.D.)
MARCA	KRAMER
PAIS	COLOMBIA
CODIGO DEL PRODUCTO	04402685

DESCRIPCION:

LAMINA PARA R.H. (ANTI A.B.D.) LAMINA DE VIDRIO MARCADA PARA REACCIONDE AGLUTINACION CON ANTISUEROS ANTI A, B Y D.

LAMINILLAS DE CUARZO



Características

LAMINILLAS DE CUARZO
CUBRE-OBJETOS
MARCA: SUPERIOR, ALEMANA

MEDIDAS: 20 X 26 mm

PRESENTACION: CAJA X 10 UNIDADES

Producto	REF	Código
Laminillas de cuarzo	20 X 26	04402840

IMCOLMEDICA S.A.®
IMPORTADORA COLOMBIANA DE ELEMENTOS MÉDICOS

FICHA TÉCNICA

NOMBRE	Placa para microfloculación
CODIGO DE PRODUCTO	04402652
REFERENCIA	180002
MARCA / PAIS	Marienfeld / Alemania



DESCRIPCION PRODUCTO

UNIDAD DE VENTA	Unidad
USO	Utilizada en métodos de floculación como V.D.R.L
CARACTERISTICAS	-Fabricadas en vidrio prensado -12 cavidades ópticamente claras, prensadas y numeradas. -Cada cavidad tiene diámetro aprox. 15 mm, profundidad aprox. 1,5 mm, con ranuras para recibir liquido rebasado -Tamaño de la placa: 89 x 57 x 4,5 mm

ACCESORIOS INCLUIDOS	

NOTAS TECNICAS	

Calle 36 Nro. 15-42 Bogotá – Colombia **PBX Administrativo**: (571) 2889858 **Call Center** (571) 2871811
www.imcolmedica.com.co - info@imcolmedica.com.co

Laboratorios
OSSALUD S.A.

Ficha técnica Lanceta en aluminio

Nombre: Lanceta en aluminio



Estructura principal: Lanceta en aluminio 100%

Lanceta desechable estéril para uso individual.

Marca: OSS

Empaque primario: Caja x 200 unidades

Dimensiones: Alto 4,6cm Ancho 6 milimetros Punta 3 milimetros

Función: su función principal es para la extracción de muestras de sangre.

FICHA TECNICA LAPIZ DE CERA



Presentación: Unidad
Color: Disponibles
Referencia: 1764033
Especificacion: Lápiz de cera / Para materiales porosos / Resistente a la decoloración y humedad / Cuerpo desplegable

LÁPIZ DE CERA SHARPIE MIRADO
Con el Lápiz de Cera Sharpie Mirado marca tus textos, documentos o cualquier material poroso con la garantía de color y permanencia a pesar del tiempo.

- Con forma redonda, siempre será cómodo al usar.
- Renueva la punta jalando del cordón que desprende el cuerpo de papel en espiral.
- Es ideal para escribir o trazar en materiales porosos, como papel, cartón o pellón.
- Su interior de cera en color rojo es resistente a la decoloración y la humedad.

JusChek®

Leptospira IgG/IgM Casete de prueba rapida (Sangre Total / Suero / Plasma) Inserto

REF ILEP-402 | **Español**

Prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra Leptospira interrogans en muestras de sangre, suero o plasma de seres humanos.
Solo para uso profesional en diagnóstico in vitro.

USO PREVISTO

El casete de prueba rápida de IgG / IgM de Leptospira (sangre total / suero / plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra Leptospira interrogans en sangre, suero o plasma de seres humanos.

RESUMEN

La leptospirosis se presenta en todo el mundo y es un problema de salud común de leve a grave para humanos y animales, especialmente en áreas con un clima cálido y húmedo. Los reservorios naturales para la leptospirosis son roedores y una gran variedad de mamíferos domesticados. La infección humana es causada por Leptospira interrogans, el miembro patógeno del género Leprospira1,2. La infección se propaga a través de la orina del animal huésped.
Después de la infección, las leptospiras están presentes en la sangre hasta que se eliminan después de 4 a 7 días después de la producción de anticuerpos anti-Leptospira interrogans, inicialmente de la clase IgM. El cultivo de sangre, orina y líquido cefalorraquídeo es un medio eficaz para confirmar el diagnóstico entre la 1ª y la 2ª semanas después de la exposición. La detección serológica de anticuerpos anti-Leptospira interrogans también es un método de diagnóstico común. Las pruebas están disponibles en esta categoría: 1) La prueba de aglutinación microscópica (MAT); 2) ELISA;
3) Pruebas de anticuerpos fluorescentes indirectos (IFAT) 6. Sin embargo, todos los métodos antes mencionados requieren una instalación sofisticada y técnicos bien capacitados.

PRINCIPIO

El Casete de prueba rápida de IgG / IgM de Leptospira (sangre total / suero / plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en la membrana para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra Leptospira en sangre total, suero o plasma. La membrana se recubre previamente con IgG antihumana de ratón recombinante y IgM antihumana de ratón en la región de la línea de prueba del casete. Durante las pruebas, la muestra de sangre, suero o plasma reacciona con el oro coloide conjugado con antígeno de Leptospira interrogans recombinante. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con IgG antihumana de ratón y / o IgM antihumana de ratón en la membrana y generar una línea de color. La presencia de esta línea de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para servir como un control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control que indica que se ha agregado el volumen adecuado de la muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

REACTIVOS

El casete de prueba contiene oro coloide conjugado con antígeno de Leptospira interrogans recombinante, IgG antihumana de ratón y IgM anti-humana de ratón recubiertos en la membrana.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Siga las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante todo el procedimiento y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables y protección ocular cuando se analicen las muestras.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit se puede almacenar a temperatura ambiente o refrigerado (2-30 ° C). El casete de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. El casete de prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. NO CONGELAR. No usar más allá de la fecha de caducidad.

RECOGIDA Y PREPARACION DE MUESTRAS

- El casete de prueba rápida de Leptospira IgG / IgM (sangre total / suero / plasma) se puede realizar utilizando sangre total (por punción venosa o punción digital), suero o plasma.
- Para recolectar especímenes de sangre entera por punción digital:
- Lavar la mano del paciente con jabón y agua tibia o limpiar con un algodón con alcohol. Dejar secar.
- Masajee la mano sin tocar el lugar de la punción frotando la mano hacia la punta del dedo del dedo medio o anular.
- Perforar la piel con una lanceta estéril. Limpia el primer signo de sangre.
- Frote suavemente la mano de la muñeca a la palma de la mano para formar una gota de sangre redondeada sobre el lugar de la punción.

- Agregue la muestra de sangre total de punción digital al casete de prueba usando un tubo capilar:
- Toque el extremo del tubo capilar con la sangre hasta que se llene a aproximadamente 40 uL. Evita las burbujas de aire.
- Coloque la bombilla en el extremo superior del tubo capilar, luego oprima la bombilla para dispensar toda la sangre al pozo de la muestra del casete de prueba.
- Agregue el espécimen de sangre completa punción digital al casete de prueba usando gotas colgantes:
- Coloque el dedo del paciente de modo que la gota de sangre quede justo por encima de la muestra del casete de prueba.
- Permitir que una gota de sangre sea el objetivo de la camara de dedo en el centro del pozo de la muestra en el caso de la prueba, o el dedo del paciente para que la gota que cuelga toque el centro del pozo de la muestra. Evite tocar bien el dedo directamente sobre la muestra.
- Separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Sólo se pueden utilizar muestras claras, no hemolizadas.
- Las pruebas deben realizarse inmediatamente después de que se hayan recogido las muestras. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8 ° C durante un máximo de 3 días; para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 ° C. La sangre completa recogida por punción venosa debe almacenarse a 2-8 ° C si la prueba debe realizarse dentro de los 2 días posteriores a la extracción. No congelar muestras de sangre entera. La sangre entera recogida por punción digital debe analizarse inmediatamente.
- Llevar las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
- Si se van a enviar muestras, se deben empacar de acuerdo con las regulaciones federales para el transporte de agentes .

MATERIALES

Materiales proporcionados

• Casetes de Prueba • goteros • Buffer • Inserto

• Materiales requeridos pero no proporcionados

• Recipientes de recogida de muestra • Centrifuga (para plasma solamente) • Cronómetro
• Lancetas (solo para punción digital de sangre total)
• Tubos capilares heparinizados y bulbo dispensador (solo para sangre total por punción digital)

INSTRUCCIONES DE USO

Permita que el casete de prueba, la muestra y / o los controles se equilibren a temperatura ambiente (15-30 ° C) antes de la prueba.

1. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y utilícelo tan pronto como sea posible. Los mejores resultados se obtendrán si el ensayo se realiza dentro de una hora.

2. Coloque el cassette en una superficie limpia y nivelada.
Para muestras de suero o plasma: Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 1 gota de suero o plasma (aproximadamente 40uL) al pozo de la muestra, luego agregue 2 gotas de tampón (aproximadamente 80uL), e inicie el temporizador, vea la ilustración a continuación.
Para la muestra de sangre completa de Venipuncture: Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 1 gota de sangre completa (aproximadamente 40 uL) al pozo de la muestra, luego agregue 2 gotas de tampón (aproximadamente 80uL) y encienda el temporizador. Vea la siguiente ilustración.
Para punción dactilar muestra de sangre entera:

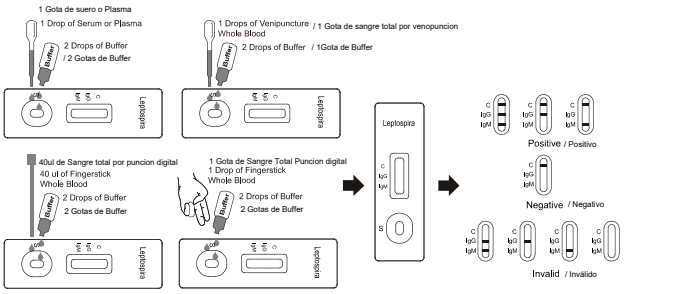
- Para usar un tubo capilar: Llene el tubo capilar y transfiera aproximadamente 40 ul de la muestra de sangre total de punción digital a la cavidad de la muestra del casete de prueba, luego agregue 2 gotas de tampón (aproximadamente 80 ul) y encienda el temporizador. Vea la siguiente ilustración.
- Para usar gotas colgantes: permita que una gota colgante de muestra de sangre entera de punción digital (aproximadamente 40 ul) caiga en el pozo de la muestra del casete de prueba, luego agregue 2 gotas de tampón (aproximadamente 80 ul) y encienda el temporizador. Vea la siguiente ilustración.

3. Espere a que aparezcan las líneas de colores. Lea los resultados a los 15 minutos, no interprete los resultados después de 20 minutos

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Por favor refiérase a la ilustración de arriba)

IgG POSITIVO: Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color debe estar en la región de IgG.
IgM POSITIVO: Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color debe estar en la región de IgM.
IgG e IgM POSITIVO: aparecen tres líneas de colores distintos. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y las otras dos líneas de color deben estar en las regiones de IgG e IgM.
NOTA: La intensidad del color en las regiones de IgG e IgM variará según la concentración de anticuerpos de Leptospira presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de rojo en las regiones de IgG e IgM se debe considerar positivo.
NEGATIVO: aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece una línea roja o rosa aparente en las regiones de IgG e IgM.
NO VÁLIDO: la línea de control no aparece. El volumen insuficiente de la muestra o las técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables del fallo de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor local.



CONTROL DE CALIDAD

Los controles de procedimiento internos están incluidos en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control interno de procedimiento positivo. Se confirma el volumen de muestra suficiente y la técnica de procedimiento correcta. Las normas de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y para verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

LIMITACIONES

1. La Dirección de uso y la Interpretación del resultado deben estar muy de cerca cuando se prueba la presencia de anticuerpos contra L.interrogans patógenos en suero, plasma o sangre total de sujetos individuales. No seguir el procedimiento puede dar resultados inexactos.
2. El casete de prueba rápida de IgG / IgM de Leptospira (sangre total / suero / plasma) se limita a la detección cualitativa de anticuerpos contra Leptospira interrogans en suero humano, plasma o sangre total. La intensidad de la banda de prueba no tiene una correlación lineal con el título de anticuerpos en la muestra.
3. Un resultado negativo para un sujeto individual indica la ausencia de anticuerpos detectables de Leptospira interrogans. Sin embargo, un resultado negativo de la prueba no excluye la posibilidad de exposición a Leptospira interrogans.
4. Se puede producir un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos contra Leptospira interrogans presentes en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o si los anticuerpos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recolecta una muestra.
5. Algunas muestras que contienen un título inusualmente alto de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.
6. Los resultados obtenidos con esta prueba solo deben interpretarse junto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.

VALORES ESPERADOS

El casete de prueba rápida de Leptospira IgG / IgM (sangre total / suero / plasma) se ha comparado con una prueba ELISA de IgG de Leptospira comercial líder, la prueba ELISA de IgM de Leptospira. La correlación entre estos dos sistemas es superior al 98%.

CARACTERISTICAS DE PRESENTACIÓN

Sensitivity and Specificity

A total of 230 samples from susceptible subjects were tested by the Leptospira IgG/IgM Rapid Test Cassette and by a commercial Leptospira IgM ELISA kit. Comparison for all subjects is shown in the following table.

IgM Results

Metodo		ELISA		Total Resultados
Casete de prueba rápida de IgG / IgM de Leptospira (sangre total / suero / plasma)	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	9	3	12
	Negativo	1	217	218
Total Resultados		10	220	230

Sensibilidad relativa: 90.0% (95%CI*: 55.5%-99.7%)
Especificidad relativa: 98.6% (95%CI*: 96.1%-99.7%)
Exactitud: 98.3% (95%CI*: 94.7%-98.9%) *Intervalos de confianza

Un total de 239 muestras de sujetos susceptibles se analizaron con el Casete de prueba rápida de IgG / IgM de Leptospira y con un kit comercial ELISA de IgG de Leptospira. La comparación de todos los temas se muestra en la siguiente tabla.

Resultados IgG

Metodo		ELISA		Total Results
Casete de prueba rápida de IgG / IgM de Leptospira (sangre total / suero / plasma)	Resultados	Positive	Negative	
	Positivo	15	3	18
	Negativo	1	220	221
Total Resultados		16	223	239

Sensibilidad relativa: 93.8% (95%CI*: 69.8%-99.8%)
Especificidad relativa:98.7% (95%CI*: 96.1%-99.7%)
Exactitud: 98.3% (95%CI*: 95.8%-99.5%) *Intervalos de confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La precisión dentro de la ejecución se ha determinado mediante el uso de 20 repeticiones de cinco muestras: una negativa, una Leptospira IgM de bajo título positiva, una Leptospira IgM de alta titulación positiva, un Leptospira IgG de título positivo y una Leptospira IgG alta titulación positiva. El negativo, un positivo de Leptospira IgM bajo título, un positivo de Leptospira IgM alto título, un positivo de Leptospira IgG bajo título y un positivo de Leptospira IgG valores alto fueron identificados correctamente el 100% del tiempo.

Inter-ensayo

La precisión entre carreras se ha determinado mediante 20 ensayos independientes en los mismos cinco especímenes: un negativo, un Leptospira IgM de bajo título positivo, un Leptospira IgM de alto título positivo, un Leptospira IgG positivo de título y un Leptospira IgG positivo de alto título. Tres lotes diferentes del Casete de prueba rápida de Leptospira IgG / IgM (sangre total / suero / plasma) se probaron durante un período de 3 días utilizando un valor negativo, un título positivo de Leptospira IgM, un título de Leptospira IgM positivo, un título de Leptospira IgG bajo Títulos positivos y muestras de Leptospira IgG con títulos altos. Las muestras fueron correctamente identificadas el 100% del tiempo.

Reactividad cruzada

El casete de prueba rápida de IgG / IgM de Leptospira (sangre total / suero / plasma) se ha probado con HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, Sífilis, VIH, H. Pylori, MONO, CMV, rubéola y TOXO positivo especimenes Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

Sustancias interferentes

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a muestras positivas y negativas de Leptospira interrogans.

Acetaminofen: 20 mg/dL	Cafeina: 20 mg/dL
Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dL	Ácido gentisico: 20 mg/dL
Ácido ascórbic: 2g/dL	Albumina: 2 g/dL
Creatina: 200 mg/dL	Hemoglobina: 1000mg/dL
Bilirubina: 1g/dL	Ácido oxálico: 60mg/dL

Ninguna de las sustancias a la concentración probada interfirió en el ensayo.

BIBLIOGRAFIA

1. Stallman GND. The International Committee on Systematic Bacteriology: Sub committee on the Taxonomy of Leptospira. Int J Syst Bacteriol 1987; 37:472.
2. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14:296-326
3. Faine S, ed. Guidelines for the control of leptospirasis. Geneva: World Health Organization, 1982.
4. Cumberland PC, Everard COR, Levett PN. Assessment of the efficacy of the IgM enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. Am J Trop Med Hyg. 1999; 61: 731–734.
5. Adler B, Murphy AM, Locarnini SA, Faine S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 1980; 11: 452–457.
6. Appassakij H, Silpapojakul K, Wansit R, et al: Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis. Am J Trop Med Hyg 1995; 52: 340.

Índice de símbolos

⚠	Atención, ver instrucciones de uso.	Σ	Tests por kit	EC REP	Representante autorizado
IVD	Sólo para uso diagnóstico in vitro		Usar Hasta		No reutilizar
2°C 30°C	Almacénese 2-30° C	LOT	Numero de lote	REF	Catalogo #
	No utilizar si el envase está dañado		Fabricante		Consulte las instrucciones de uso

ACRO BIOTECH, Inc.
9500 Seventh Street,
Unit M, Rancho Cucamonga,
CA 91730, U.S.A.

EC REP
MedNet GmbH
Borkstrasse 10
48163 Muenster
Germany

Número: 838400
Fecha efectiva: 2018-06-01

COLORACIÓN ANTHONY

Coloración para parasitología en M.F.

IVD

USO PREVISTO Y PRINCIPIO

La COLORACIÓN ANTHONY es una solución acuosa de Yodo y Yoduro de Potasio, utilizado en el diagnóstico parasitológico para el examen directo de heces, donde es posible colorear en forma temporal trofozoítos y quistes de protozoos. Inmovilizar y colorear estructuras internas de larvas e identificar por morfología específica. Tiene su aplicación en el examen coproparasitologico directo con el fin de buscar, principalmente en muestras frescas, la presencia de formas evolutivas móviles de parásitos de tamaño microscópico (trofozoítos, quistes de protozoos: Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, Balantidium coli, etc.); así como larvas o huevos de helmintos: Strongyloides stercoralis, Ancylostoma duodenale, Necator americanus, Trichostrongylus sp., Paragonimus, Fasciola, etc.

CONTENIDOS

R 1 **LUGOL DE ANTHONY M.F.** – Listo para su uso
Yodo metálico R.A., Potasio yoduro R.A., Agua desmineralizada tipo II.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, cumpliendo las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Palillos
- Cubreobjetos

MUESTRAS

Materia fecal fresca.
Las muestras deben mantenerse en un ambiente fresco y lejos de la luz solar, se deben evitar las temperaturas extremas o el desecamiento, deben contener cantidades óptimas y estar en frascos o contenedores rotulados.

Toda muestra biológica debe ser considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. En una lamina portaobjetos dispense una gota de LUGOL DE ANTHONY M.F.
2. Tome una pequeña cantidad de muestra de materia fecal con un palillo y mezcle uniformemente con el Lugol en la lámina.
3. Coloque encima una laminilla cubreobjetos evitando que queden burbujas.
4. Observar al microscopio a 10X ó 40X. Recorrer la lámina siguiendo un sentido direccional, ejemplo: de derecha a izquierda, o de arriba a abajo.

RESULTADO

POSITIVO: En el registro correspondiente, se anotará el nombre de la especie del parásito y su estadio evolutivo, indicando la densidad (número de formas parasitarias por campo microscópico) expresado en cruces:

(+) Si se observan de 2 a 5 elementos por campo microscópico 10X ó 40X.
(++) Si se observan de 6 a 10 elementos por campo microscópico 10X ó 40X.
(+++) Si se observan >10 elementos por campo microscópico 10X ó 40X.

NEGATIVO: Informar que no se observaron quistes, trofozoítos, ni huevos de parásitos.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

1.Organización Mundial de la Salud. Infecciones Intestinales por protozoos y helmintos. Ginebra:OMS; 1981. Serie Informes Técnicos.
2.Organización Mundial de la Salud. Métodos básicos de laboratorio en parasitología. Ginebra: OMS;1991.
3.Organización Mundial de la Salud. Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales. Ginebra: OMS; 1995.
4.Shore L, Lawrence R. Diagnostic Parasitology. Manual of clinical laboratory. C.V Mosby Co.; 1975.

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR
Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

2017-07v3

COLORACIÓN GRAM

Juego de soluciones para la coloración diferencial de GRAM para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos para la coloración de GRAM se utilizan para realizar tinciones de microorganismos de cultivos o muestras mediante el método diferencial de GRAM.

PRINCIPIO

La tinción de GRAM fue creada en 1884 por Christian Gram con la intención de distinguir las células bacterianas del tejido infectado. Aunque Gram observó lo que ahora se denomina la "reacción de Gram", no reconoció el valor taxonómico de su técnica. La tinción de GRAM ahora se utiliza para diferenciar las bacterias intactas y morfológicamente similares en dos grupos según el color de la célula después de la tinción. Además, se hacen evidentes la forma, el tamaño y los detalles estructurales de la célula. Dicha información preliminar proporciona indicios importantes en cuanto al tipo de organismo u organismos presentes y las técnicas ulteriores necesarias para caracterizarlos. La coloración de GRAM ha constituido un elemento fundamental para la taxonomía e identificación. Las bacterias GRAM positivas que presentan una gruesa capa de peptidoglicano como estructura fundamental por sobre la membrana citoplasmática, y las GRAM negativas, que encima de ésta, presentan una delgada capa de peptidoglicano, a la que se superpone una capa de lipopolisacáridos-lipoproteína, denominada membrana externa. La presencia de esta membrana diferencia actualmente dos divisiones en sistemática bacteriana: las que no lo poseen, Firmicutes (GRAM +) y las que sí, Gracilicutes (GRAM-). Esta coloración permite la clasificación de las bacterias en GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS SEGÚN LA COMPOSICIÓN DE SU PARED CELULAR. Por esto el complejo de color formado con la pared de las bacterias gram positivas no puede ser removido con el agente decolorante que es el alcohol acetona. La célula permanece de color azul violeta, en cambio las bacterias gram negativas, al decolorarse con el alcohol acetona, se dejan colorear con la fucsina ó safranina, quedando de color rosado

CONTENIDOS

R 1 **VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM**
–Listo para su uso
Violeta cristal, Amonio Oxalato, Agua desmineralizada tipo II

R 2 **LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM** -Listo para su uso
Yodo metálico, Yoduro de potasio, Agua desmineralizada tipo II

R 3 **ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM**
– Listo para su uso
Alcohol Etílico al 96%, Acetona

R 4 **FUCSINA BÁSICA GRAM** –Listo para su uso
Fucsina básica, Fenol, Alcohol etílico al 96%

Alternativa
SAFRANINA GRAM –Listo para su uso
Safranina, Alcohol etílico al 96%

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R3 ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son inflamables, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de tinción
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Líquidos corporales, exudados, material de colonias líquido o sólido.
Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme.
Emulsionar las colonias de un cultivo de 18 – 24 h en solución salina para obtener la densidad adecuada. Dejar que el frotis se seque al aire.
Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la tinción.

NOTA: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una tinción atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Cubrir la preparación (Placa) fijada con VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM por un (1) minuto.
2. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
3. Cubrir la preparación (Placa) con LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM por un (1) minuto.
4. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
5. Decolorar la placa con ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM Por 15 - 30 segundos hasta que la placa decolore totalmente.
6. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
7. Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM por un (1) minuto.
8. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
9. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de tinción, decoloración y lavado. Se ha encontrado que el mal uso del ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM en la fase de decoloración puede llegar a decolorar los gérmenes GRAM POSITIVOS.

RESULTADOS PREVISTOS

Microorganismos GRAM Positivos	**Azul-Violeta**
Microorganismos GRAM Negativos	**Rosa-Rojo**

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
Los controles pueden realizarse con bacterias GRAM Positivas (Staphylococcus aureus) y bacterias GRAM Negativas (Escherichia coli).
Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18-24 horas.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La tinción de GRAM proporciona información de identificación primaria solamente, y no está diseñada para sustituir los estudios de cultivo de la muestra. Los resultados de tinción de GRAM deben confirmarse con procedimientos adicionales tales como análisis directo de antígenos y cultivos de los medios.
- Cualquier tratamiento anterior con antibióticos puede hacer que organismos grampositivos de una muestra aparezcan como gramnegativos.
- Se aconseja el uso de cultivos de 18 – 24 h para obtener resultados óptimos, dado que las células recientes tienen una mayor afinidad que las células de más antigüedad para la mayoría de los colorantes.
- La reacción de tinción de GRAM se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la tinción de GRAM de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Splengler, M.S., Rodeheaver, G.T., Richter, L., Edgerton, Edlich, R.F.. The Gram stain – The most important diagnostic test of infection. J.Am. College Emergency Physicians 7, 434-438. (1978).
3. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR
Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

2017-07v5

Abbott

Bioline™

Malaria Ag P.f/P.f/P.v

REF 05FK120

Malaria HRP2 (P.f), pLDH (P.f) and pLDH (P.v) Antigen Rapid Test
Test de diagnostic rapide de l'antigène la protéine HRP2, de la pLDH de P.f et de la pLDH de P.v
Prueba paso de detección rápida de antígenos de HRP2 (P.f), pLDH (P.f) y pLDH (P.v) de la malaria
Teste rápido do antigénio Malaria HRP2 (P.f), pLDH (P.f) e pLDH (P.v)

ENGLISH

About the test

[Introduction]
Malaria is a serious and sometimes fatal parasitic disease characterized by fever, chills and anemia. The disease is caused by a parasite that is transmitted from one human to another through the bite of infected *Anopheles* mosquitoes. There are four types of malaria that can infect humans: *Plasmodium falciparum, P. vivax, P. ovale* and *P. malariae*. In humans, the parasites (called sporozoites) migrate to the liver where they mature and are released in another form: merozoites. The disease occurs in more than 90 countries worldwide, and it is estimated that there are some 300 million clinical cases and 0.5 million malaria-related deaths per year. At present, malaria is diagnosed by looking for parasites in a drop of blood. Blood is placed on a microscope slide and stained so that the parasites will be visible under a microscope.

[Test principle]
Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test utilizes the principle of immunochromatography. Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test kit contains a membrane strip, which is pre-coated with mouse monoclonal antibodies specific to histidine-rich protein II (HRP2) of *P. falciparum* in test line (T1), mouse monoclonal antibodies specific to plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH) of *P. falciparum* in test line 2(T2) and mouse monoclonal antibodies specific to pLDH of *P. vivax* in test line 3(T3) region. This test device has a letter of T1, T2, T3 and a "Test Line" and "Control Line" on the surface of the device. All the Test Lines and Control Line in result window are not visible before applying any specimens. The Control Line is used for procedural control. Control Line should always appear if the test procedure is performed properly and the test reagents of control line are working. It is indicated as follows: As the Pf (HRP2, pLDH) and Pv reactive specimen flow through the membrane assembly of the cassette after addition of the assay diluent, they form a complex with mouse monoclonal antibodies specific to Pf HRP2-gold conjugates and mouse monoclonal antibodies specific to pan pLDH -gold conjugates. This complex move further on the membrane to the test line region where it is immobilized by mouse monoclonal P.f HRPII antibodies, P.f pLDH antibodies and Pv pLDH antibodies. At this region, the membrane leading to formation of a red-purple colored band in the respective regions which confirms a reactive test result. Absence of a colored band in the test region indicates a non-reactive test result for the corresponding antigen.

[Intended Use]
Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test kit is an *in vitro* rapid, qualitative test for the detection of histidine-rich protein II (HRP2) antigen and plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH) from Malaria *Plasmodium falciparum* and pLDH from *Malaria Plasmodium vivax* in human whole blood. Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v kit is intended only for professional use and for *in vitro* diagnostic use. Positive specimens should be confirmed by a supplemental assay such as microscopic examination of blood smear.

Materials provided and active ingredients of main components

1. Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test kit contains the following items to perform the assay:
   - 25 Test devices with desiccant in individual foil pouches
   - Assay diluent (5 x 5 ml/vial)
   - 25 Disposable inverted cups (5 µl), 25 Sterile lancets, 25 Alcohol swabs
   - 1 Instructions for use
2. Active ingredients of main components
   - 1 test strip includes : Gold conjugate : Mouse monoclonal antibodies specific to *P.f* HRP2 - gold colloid (0.10±0.02 µg), Mouse monoclonal antibodies specific to pan pLDH - gold colloid (0.25±0.05 µg), Test line 1 : Mouse monoclonal antibodies specific to *P.f* HRP2 (0.5±0.1 µg), Test line 2 : Mouse monoclonal antibodies specific to *P.f* pLDH (0.5±0.1 µg), Test line 3 : Mouse monoclonal antibodies specific to *P.v* pLDH (0.5±0.1 µg), Control Line : Goat anti-mouse IgG (1.0±0.2 µg)
   - Assay diluent : Bovine serum albumin (q.s.), 200 mM Phosphate Buffer (q.s.), TRITON™ X-100 (q.s.), Sodium azide (q.s.)

Materials required but not provided

- Protective gloves, Timer, Biohazard container

Kit storage and stability

1. The test kit should be stored at a temperature between 1 °C and 40 °C. Do not freeze the kit or its components. Assay diluent can should be kept firmly sealed between each use.
   ⚠ **Caution :** When stored at refrigerator, all kit components must be brought to room temperature (15 - 40 °C) minimum 30 mins prior to the test. Do not open the pouch whilst components come to room temperature.
2. Assay diluent may be opened and resealed for each assay. It is stable until expiration date if kept at 1 - 40 °C.
3. The test device is sensitive to both heat and humidity. Perform the test immediately after removing the test device from foil pouch.
4. Do not use the test kit beyond its expiration date.
5. The shelf life of the kit is as indicated on the outer package.
6. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.
7. When transporting or storing the kit, avoid exposure to high temperature (above 45 °C) for a period longer than 1 week.

Warnings

1. For *in vitro* diagnostic use only. Do not reuse the test device and kit components.
2. The instructions must be followed exactly to achieve accurate results. Any individual performing an assay with this product must be trained in its use and must be experienced in laboratory procedures.
3. Do not eat or smoke while handling specimens.
4. Wear protective gloves while handling specimens and wash hands thoroughly afterwards.
5. Avoid splashing or aerosol formation of specimen and assay diluent.
6. Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
7. Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials (i.e. lancet, disposable inverted cup, test device) in a biohazard container as if they were infectious waste.
8. Do not mix or interchange different specimens.
9. Do not mix reagent of different lots or those for other products.
10. Do not pipette by mouth.
11. Do not eat the desiccant in the foil pouch.
12. Do not drink assay diluent.
13. The assay diluent contains a proprietary anti-microbial agent, sodium azide, which presents no hazard to the user if normal laboratory safety procedures are followed. If contact with assay diluent to the eyes and/or skin, wash affected area with soap and water immediately. If irritation or signs of toxicity occur, seek medical attention.

Specimen collection and storage

[Collection by venipuncture]
1. Using venipuncture, draw whole blood into the collection tube (containing anticoagulants including heparin, EDTA and sodium citrate).
2. If the blood specimen is not immediately tested, it must be refrigerated at 2 - 8 °C.
3. If stored at 2 - 8 °C, the blood specimen must be tested within 3 days.
4. Do not use a blood specimen stored for more than 3 days; it can cause a nonspecific reaction.

[Collection using a lancet]
1. Clean the area to be lanced with an alcohol swab.
2. Squeeze the end of the fingertip and pierce with a sterile lancet provided.
3. Wipe away the first drop of blood with sterile gauze or cotton.
4. Using a disposable inverted cup (5 µl) provided, dip the circular end of inverted cup into the blood specimen.

[Precaution]
1. Anticoagulants including heparin, EDTA and sodium citrate do not affect the test results. Use of other anticoagulants have not been validated. Their use may affect the test results.
2. Use a new disposable inverted cup for each specimen in order to avoid cross contamination of specimens, which could produce erroneous results.
3. Discard the lancet or alcohol swab if package is pierced or damaged. The use of damaged lancet may cause any infection at the punctured skin due to cease to existing its sterility.
4. Repeated frozen-thawed cycle for specimen should be avoided.

Test procedure (Refer to figure)

1. Bring all kit components and specimen to room temperature prior to testing.
2. Remove the test device from foil pouch and place it on a flat, dry surface. Label the test device with a patient identifier.
3. Clean the area to be lanced with an alcohol swab.
4. Prick the lateral side of the finger with the sterile lancet provided. Then, safely dispose of the lancet immediately after.
5. Using a disposable inverted cup (5 µl) provided, dip the circular end of inverted cup into the blood specimen and carefully place the circular end of the inverted cup into the round specimen well.
6. Holding the assay diluent buffer bottle vertically, dispense 4 drops into the square assay diluent well.
   ⚠ **Caution :** Do not let bottle nozzle touch device in order to avoid cross-contamination. Hold bottle vertically while dispensing. If you do not hold the bottle vertically, it can lead to erroneous results.
7. Read the test result after 15 minutes.
   ⚠ **Caution :** Do not read test results after 30 minutes. ; reading after 30 minutes can yield erroneous results.

Test interpretation (Refer to figure)

1. Non-reactive result :
The presence of Control Line ("C") within the result window indicates a non-reactive result.
2. Reactive result :
⚠ **Caution :** The presence of any test line, no matter how faint, the result is considered reactive.
- ***P.f* Reactive result**
  "C" and "T1" (Two lines), "C" and "T2" (Two lines) or "C", "T1" and "T2" (Three lines) :
  The presence of two colored lines ("C" and "T1"), ("C" and "T2") or three colored lines ("C", "T1" and "T2") within the result window, regardless of which line appears first, indicate *P.f* reactive result.
- ***P.v* Reactive result**
  "C" and "T3" (Two lines) :
  The presence of two colored lines ("C" and "T3") within the result window, regardless of which line appears first, indicate pLDH of *P.vivax* reactive result.
- ***P.f* and *P.v* Reactive result**
  "C", "T1" and "T3"(Three lines), "C", "T2" and "T3"(Three lines) or "C", "T1", "T2" and "T3"(Four lines) : The presence of three colored lines ("C", "T1" and "T3"), ("C", "T2" and "T3") or four colored lines ("C", "T1", "T2" and "T3") within the result window, regardless of which line appears first, indicate *P.f* and *P.v* reactive result.

3. Invalid result :
If the Control Line ("C") is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. Instructions may not have been followed correctly or the test may have deteriorated beyond the expiration date. It is recommended that the specimen be retested using a new test device.

Test limitations

1. The test procedure, precautions and interpretation of results for this test must be followed precisely.
2. The test is limited to the detection of antigen to Malaria *P. falciparum and/or P. vivax*. Although the test is very accurate in detecting HRP2 or pLDH specific to *P.f* and/or pLDH specific to *P.v*, a low incidence of false results can occur. As with all diagnostic tests, clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
3. The tests are applicable to general population who can be taken enough volume of the claimed specimen types for the test. However, it is not verified for such a population specific to pregnant women or neonates.

Internal quality control

Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test device has "Test Lines (T1, T2 and T3)" and "Control Line" on the surface of the device. All the test lines and control line in result window are not visible before applying any specimens. The control line is used for procedural control. The control line used for procedural control and shows only that the diluent has been applied correctly and that the test strip and the other ingredients of main components on the strip was still functional, but is not an assurance that the specimen has been properly applied ; it is not a reactive specimen control.

Expected values

Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test has been compared with microscopic examination. The overall accuracy is greater or equal to 95%.

Performance characteristics

1. Evaluation interne de Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test
   A. Sensitivity of Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test for the detection of *P.f* HRP2

No. of parasites/ µl of blood	Microscopy (No. of reactive)	Bioline™ Malaria Ag P.f/ P.f/P.v (No. of reactive)	Sensitivity (95% CI)
≤50	15	14	93.3% (70.2 - 98.8%)
51-100	30	30	100% (88.7 - 100%)
101-500	83	83	100% (95.6 - 100%)
501-1,000	87	87	100% (95.8 - 100%)
1,001-5,000	62	62	100% (94.2 - 100%)
>5,000	35	35	100% (90.1 - 100%)
Total	**312**	**311**	**99.7% (98.2 - 99.9%)**

   B. Sensitivity of Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test for the detection of pLDH specific to *P.f*

No. of parasites/ µl of blood	Microscopy (No. of reactive)	Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v (No. of reactive)	Sensitivity (95% CI)
≤50	6	3	50.0% (11.8 - 81.2%)
51-100	10	9	90.0% (59.6 - 98.2%)
101-500	25	24	96.0% (80.5 - 99.3%)
501-1,000	18	18	100% (82.4 - 100%)
1,001-5,000	29	29	100% (88.3 - 100%)
>5,000	23	23	100% (85.7 - 100%)
Total	**111**	**106**	**95.5% (89.9 - 98.1%)**

   C. Sensitivity of Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test for the detection of pLDH specific to *P.v*

No. of parasites/ µl of blood	Microscopy (No. of reactive)	Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v (No. of reactive)	Sensitivity (95% CI)
≤50	15	8	53.3% (30.1 - 75.2%)
51-100	30	29	96.7% (83.3 - 99.4%)
101-500	83	83	100% (95.6 - 100%)
501-1,000	87	87	100% (95.8 - 100%)
1,001-5,000	62	62	100% (94.2 - 100%)
>5,000	35	35	100% (90.1 - 100%)
Total	**312**	**304**	**97.4% (95 - 98.7%)**

   D. Total Sensitivity and Specificity of Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test

Reference method (Microscopic examination)	Result of Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v		Total	Result (95% CI)
	Reactive	Non-reactive		
P.f HRP2 Reactive	311	1	312	**Sensitivity** 99.7% (98.2 - 99.9%)
P.f pLDH Reactive	304	8	312	**Sensitivity** 97.4% (95 - 98.7%)
P.v pLDH Reactive	106	5	111	**Sensitivity** 95.5% (89.9 - 98.1%)
Non-reactive	2	298	300	**Specificity** 99.3% (97.6 - 99.8%)

2. Reproducibility of Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v has been demonstrated using in-house reference panels for within-run, between-run and batch-to-batch studies. All values were identical to reference panel acceptance criteria.
3. Following 26 potential cross-reacting microorganism have no impact on the test result.

Type	Cross reaction substance	
Antigen	Dengue Virus Type 1	Dengue Virus Type 2
	Dengue Virus Type 3	Dengue Virus Type 4
	HBsAg	Yellow Fever Virus
	Chikungunya	Rubella
	West Nile Virus(WNV)	
Recombinant Antigen	*Plasmodium ovale*	*Plasmodium malariae*
Antibody	Dengue	Anti-CMV
	HIV-1	Anti-EBV
	HIV-2	Parvovirus B19
	HCV	VZV IgG/IgM
	HAMA	Syphilis
	Chagas	
Serum	*Trypanosoma brucei gambiense*	*Trypanosoma brucei rhodesiense*
Whole blood	*Plasmodium falciparum*	*Plasmodium vivax*

4. Following 36 potentially interfering substances have no impact on the test result.

Type	Potential interfering substance		
Endogenous substance	Albumin	Acetylsalicylic acid	Bilirubin (conjugate)
	Cholesterol	Hemoglobin	Triglycerides
	Nicotine		
Exogenous Substance	Acetaminophen	Amoxicillin	Cephalexin
	Doxycycline	Erythromycine	Ibuprofen
	Caffeine	Heparin	Amodiaquine
	Desethylamodiaquine	Artemether	Lumefantrine
	Artesunate	Dihydroartemesinin	Atovaquone
	Proguanil	Chloroquine	Clindamycin
	Dihydroartemisinin	Piperaquine	Doxycycline
	Mefloquine	Primaquine	Quinine
	Sulfadoxine	Pyrimethamine	
Autoimmune /Clinical specimen	Systemic lupus erythematosus	Sjogren's syndrome	Rheumatoid arthritis

5. Assay for the detection of Malaria according to the density of parasite.
   * HRP2 expressed *Plasmodium falciparum* : Sensitivity with > 50 parasite/ul of blood is 100%.
   * pLDH expressed *Plasmodium falciparum* : *Sensitivity with > 50 parasite/ul of blood is greater than 99.7%.*
   * pLDH expressed *Plasmodium vivax* : Sensitivity with > 50 parasite/ul of blood is greater than 98.2%.

Product Disclaimer :
While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the manufacturer and distributor and test results may accordingly be affected by environmental factors and/or user error. The subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the test result.

Warning :
The manufacturers and distributors of this product shall not be liable for any direct, indirect, or consequential losses, liability, claims, costs or damages arising from or related to an incorrect reactive or non-reactive diagnosis using this product.

FRANÇAIS

À propos du test

[Introduction]
Le paludisme est une maladie parasitaire grave, parfois mortelle, caractérisée par de la fièvre, des frissons et une anémie. Elle est provoquée par un parasite transmis entre sujets humains par la piqûre de moustiques anophèles infectés. Les sujets humains peuvent être infectés par quatre types de paludisme : *Plasmodium falciparum, P. vivax, P. ovale* et *P. malariae*. Chez l'homme, les parasites (nommés sporozoïtes) migrent *jusqu'au foie*, où ils atteignent la maturité et libèrent une autre forme, les mérozoïtes. Cette maladie est actuellement présente dans plus de 90 pays et, d'après les estimations, il y aurait plus de 200 millions de cas cliniques et 0,5 millions de décès dus au paludisme chaque année. Actuellement, le diagnostic du paludisme est posé par recherche des parasites dans une goutte de sang. Le sang est placé sur une lame de microscope et coloré de manière à rendre les parasites visibles au microscope.

[Principe du test]
Le test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* utilise le principe de l'immunochromatographie. Le kit de test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* contient une membrane sur laquelle ont été fixés des anticorps monoclonaux de souris spécifiques de la protéine riche en histidine (HRP2), histidine-rich protein II) de *P. falciparum* sur la ligne de test 1 (T1), des anticorps monoclonaux de souris spécifiques de la lactate déshydrogénase de plasmodium (pLDH) de *P. falciparum* sur la ligne de test 2 (T2) et des anticorps monoclonaux de souris spécifiques de la pLDH de *P.vivax* sur la ligne de test 3 (T3). La surface du boîtier de ce dispositif de test porte les indications T1, T2, T3 et C, indiquant les « Lignes de test » et la « Ligne de contrôle ». Les lignes de test et de contrôle de la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant l'application d'un échantillon. La ligne de contrôle sert à vérifier le bon fonctionnement du test. Elle apparaît systématiquement si la procédure a été réalisée correctement et que les réactifs de test de la ligne de contrôle fonctionnent. Le principe pour les résultats est le suivant : Lorsque les échantillons réactifs à *P.f* (HRP2, pLDH) et *P.v* passent à travers la membrane de la cassette après ajout du diluant, ils forment un complexe avec les anticorps monoclonaux de souris spécifiques aux conjugués *P.f* HRP2- or et avec les anticorps monoclonaux de souris spécifiques aux conjugués pan pLDH-or. Ce complexe se déplace ensuite sur la membrane jusqu'à la zone de la ligne de test où il est immobilisé par les anticorps monoclonaux de souris anti-*P.f* HRP2, les anticorps anti-*P.f* pLDH et les anticorps anti-*P.v* pLDH. Au niveau de la membrane, ce qui entraîne la formation d'une bande de couleur rouge-violette dans les régions respectives qui confirme un résultat réactif au test. L'absence de bande colorée dans la région du test indique un résultat non réactif au test pour l'antigène correspondant.

[Indication]
Le kit de test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* est un test qualitatif rapide pour la détection de l'antigène de la protéine II riche en histidine (HRP2), de la lactate déshydrogénase de plasmodium (pLDH) de *Plasmodium falciparum* et de la pLDH de *Plasmodium vivax* dans le sang total humain. Le kit Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* est destiné uniquement à un usage professionnel et au diagnostic in vitro. Les échantillons positifs devront être confirmés par un test supplémentaire, par exemple examen d'un frottis mince au microscope.

Matériels fournis et principes actifs des principaux composants

1. Le kit de test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* contient le matériel suivant, nécessaire à la réalisation du dosage :
   - 25 dispositifs de test avec agent déshydratant emballés dans des pochettes individuelles en aluminium
   - Diluant de dosage (5 x 5 ml/flacon)
   - 25 Une coupe de prélèvement à usage unique (5 µl), 25 lancettes stériles, 25 Compresse d'alcool
   - 1 mode d'emploi
2. Principes actifs des principaux composants
   - 1 bandelette de test inclut : *conjugué d'or* : anticorps monoclonaux de souris spécifiques de l'HRP2 de Pf - or colloïdal, (0,10 ± 0,02 µg), anticorps monoclonaux de souris spécifiques de pan- pLDH - or colloïdal (0,25 ± 0,05 µg), Ligne de test 1 : anticorps monoclonaux de souris spécifiques de l'HRP2 de *P.f* (0,5 ± 0,1 µg), Ligne de test 2 : anticorps monoclonaux de souris spécifiques de la pLDH de *P.f* (0,5 ± 0,1 µg), Ligne de test 3 : anticorps monoclonaux de souris spécifiques de la pLDH de *P.v* (0,5 ± 0,1 µg), Ligne de contrôle : IgG de chèvre anti-souris (1,0 ± 0,2 µg)
   - Diluants : albumine de serum bovin (q.s.), 200mM tampon phosphate (q.s.), TRITON™ X-100 (q.s.), Azoture de sodium (q.s.)

Matériel nécessaire non fourni

- Gants de protection, minuteur, conteneur pour déchets présentant un danger biologique

Stockage et stabilité du kit

1. Le kit de test doit être conservé à une température comprise entre 1 et 40 °C. Ne pas congeler le kit ni les composants. Le capuchon du diluant du dosage doit rester bien fermé entre deux utilisations.
   ⚠ **Attention :** en cas de stockage au réfrigérateur, tous les composants du kit doivent être stabilisés à température ambiante (15 à 40 °C) au moins 30 minutes avant la réalisation du test. Ne pas ouvrir l'emballage pendant que les composants reviennent à température ambiante.
2. Le diluant du dosage peut être ouvert, puis refermé pour chaque dosage. Il reste stable jusqu'à la date de péremption s'il est conservé à des températures comprises entre 1 et 40 °C.
3. Le dispositif de test est sensible à la chaleur et à l'humidité. Procéder au test immédiatement après avoir retiré le dispositif de test de son emballage en aluminium.
4. Ne pas utiliser le kit au-delà de la date de péremption.
5. La durée de conservation du kit est indiquée sur l'emballage externe.
6. Ne pas utiliser le kit dans le cas où l'emballage individuel est endommagé ou si la fermeture hermétique a cédé.
7. Lors du transport et de la conservation du kit, éviter toute exposition à une température élevée (supérieure à 45 °C) durant plus de 1 semaine.

Avertissements

1. Pour un usage de diagnostic in vitro uniquement. Ne pas réutiliser le dispositif de test et les composants du kit.
2. Suivre scrupuleusement les instructions pour garantir l'exactitude des résultats. Toute personne voulant réaliser ce test doit être formée et avoir l'expérience nécessaire en matière de procédures de laboratoire.
3. Ne pas manger ou fumer pendant la manipulation de l'échantillon.
4. Porter des gants de protection lors de la manipulation des échantillons puis bien se laver les mains.
5. Éviter les éclaboussures ou la formation d'aérosol des échantillons et du diluant.
6. Nettoyer minutieusement tout déversement à l'aide d'un désinfectant approprié.
7. Décontaminer et jeter les échantillons, les kits de réaction et les matériels potentiellement contaminés (lancettes, une coupe de prélèvement à usage unique, dispositif de test) dans un conteneur à déchets biologiques potentiellement infectieux comme s'il s'agissait de déchets infectieux.
8. Ne pas mélanger ou échanger différents échantillons.
9. Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents ou avec ceux destinés à d'autres produits.
10. Ne pas pipeter avec la bouche.
11. Ne pas manger le dessiccant dans le sachet individuel en aluminium.
12. Ne pas ingérer le diluant du test.
13. Le diluant du test contient un agent antimicrobien exclusif, de l'azoture de sodium, qui ne présente pas de danger pour l'utilisateur si les précautions habituelles du laboratoire sont respectées. En cas de contact entre le diluant du test et les yeux ou la peau, rincer immédiatement la zone concernée à l'eau savonneuse. En cas d'irritation ou de signes de toxicité, consulter un médecin.

Collecte et stockage des échantillons

[Prélèvement par ponction veineuse]
1. Pratiquer une ponction veineuse pour recueillir le sang total dans le tube de prélèvement (contenant des anticoagulants tels que l'héparine, l'EDTA et le citrate de sodium).
2. Si l'échantillon de sang n'est pas immédiatement testé, il doit être réfrigéré à une température comprise entre 2 et 8 °C.
3. Lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C, l'échantillon de sang doit être testé dans les 3 jours suivant le prélèvement.
4. Ne pas utiliser d'échantillons de sang ayant été conservés pendant plus de 3 jours ; cela risque d'entraîner une réaction non spécifique.

[Prélèvement à l'aide d'une lancette]
1. Nettoyer la surface à prélever à l'aide d'un tampon imbibé d'alcool.
2. Squeeze the end of the fingertip and pierce with a sterile lancet provided.
3. Essuyer la première goutte de sang avec de la gaze stérile ou du coton.
4. Prendre une coupe de prélèvement à usage unique (5 µl) fournie, immerger son extrémité circulaire dans l'échantillon de sang.

[Précaution]
1. Les anticoagulants, notamment l'héparine, l'EDTA et le citrate de sodium n'ont aucune influence sur le résultat du test. L'utilisation d'autres anticoagulants n'a pas été évaluée. Leur utilisation pourrait affecter le résultat du test.
2. Utiliser une nouvelle coupe de prélèvement à usage unique pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée des échantillons susceptible de fausser les résultats.
3. Jetez la lancette ou le tampon d'alcool si l'emballage est endommagé. L'utilisation de la lancette endommagé peut entrainer une infection secondaire lors de la piqure avec une aiguille non stérile.
4. Eviter de soumettre les échantillons à des cycles répétés de congélation-décongélation.

Procédure de test (voir la figure)

1. Ramener tous les composants du kit et les échantillons à température ambiante avant de commencer.
2. Sortir la cassette test de son sachet et la poser sur une surface plane et sèche. Étiqueter le dispositif de test avec un identifiant patient.
3. Nettoyer la zone de prélèvement avec un tampon imbibé d'alcool.
4. Piquer le côté latéral du doigt avec la lancette stérile fournie. Jeter la lancette immédiatement après s'être conformé aux règles de sécurité.
5. Prendre une coupe de prélèvement à usage unique (5 µl) fournie, immerger l'extrémité circulaire dans l'échantillon de sang, puis la déposer avec une précaution dans le puits d'échantillon rond.
6. En tenant le flacon de diluant de dosage à la verticale, versez 4 gouttes dans le puits carré de diluant de dosage.
   ⚠ **Attention:** veillez à ce que l'embout du flacon ne touche pas le dispositif afin d'éviter toute contamination croisée. Tenez le flacon à la verticale pour verser l'échantillon. Si vous ne tenez pas le flacon à la verticale, vous risquez d'obtenir des résultats erronés.
7. Lisez le résultat du test au bout de 15 minutes.
   ⚠ **Attention:** ne lisez pas le résultat du test après 30 minutes. Passé ce délai de 30 minutes, les résultats peuvent être erronés.

Interprétation du test (voir la figure)

1. Résultat non réactif :
La présence d'une seule Ligne de contrôle (« C ») dans la fenêtre de résultat indique un résultat non réactif.

2. Résultat réactif :
⚠ **Mise en garde :** Si la ligne de test est présente, même très pâle, le résultat est considéré comme réactif.
- **Résultat réactif pour *P.f* :**
  « C » et « T1 » (deux lignes), « C » et « T2 » (deux lignes) ou « C », « T1 » et « T2 » (trois lignes) :
  La présence de deux lignes colorées (« C » et « T1 »), (« C » et « T2 ») ou de trois lignes colorées (« C », « T1 » et « T2 ») dans la fenêtre de résultat, quelle que soit la ligne qui apparaît en premier, indique un résultat réactif pour *P.f*.
- **Résultat réactif pour *P.v***
  « C » et « T3 » (deux lignes) :
  La présence de deux lignes colorées (« C » et « T3 ») n'est pas visible dans la fenêtre de résultat après la réalisation du test, le résultat est considéré comme non valide. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test se soit détérioré au-delà de la date d'expiration. Il est recommandé d'analyser à l'aide d'un nouveau kit de test.

Limites du test

1. La procédure de test, les précautions et l'interprétation des résultats pour ce test doivent être observées pendant la réalisation du test.
2. Le test est limité à la détection de l'antigène de *P. falciparum* et/ou de *P. vivax*. Bien que le test soit très exact pour détecter de l'HRP2 ou de la pLDH spécifiques de *Pf* et/ou de la pLDH spécifique de *Pv*, une faible incidence de résultats incorrects peut être observée. Comme pour tous les tests pour diagnostic, un diagnostic clinique définitif ne doit pas reposer sur les résultats d'un test unique mais doit être posé par le médecin uniquement, après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire.
3. Le test s'adresse à la population générale, sur laquelle un volume suffisant des types d'échantillon requis pour le test peut être prélevé. Il n'a toutefois pas été vérifié sur une population de femmes enceintes ou de nouveau-nés.

Contrôle qualité interne

Le dispositif de test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* présente à sa surface des « Lignes de test (T1, T2 et T3) » et une « Ligne de contrôle ». Les lignes de test et de contrôle de la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant l'application d'un échantillon. La ligne de contrôle sert à vérifier le bon fonctionnement du test. La ligne de contrôle sert à vérifier le bon fonctionnement du test et indique uniquement que le diluant a été correctement appliqué et que les ingrédients actifs des principaux composants de la bandelette fonctionnent. Elle ne garantit pas que l'échantillon a été correctement appliqué et ne correspond en aucun cas à un contrôle d'échantillon réactif.

Valeurs attendues

Le test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* a été comparé à l'examen au microscope. La précision globale est supérieure ou égale à 95 %.

Caractéristiques de performances

1. Évaluation interne du test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v*
   A. Sensibilité du test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* pour la détection de l'HRP2 de *P.f*

Nombre de parasites/uL de sang	Microscopie (Nombre de réactif)	Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v (Nombre de réactif)	Sensibilité (IC = 95 %)
≤50	15	14	93,3 % (70,2 - 98,8 %)
51-100	30	30	100 % (88,7 - 100 %)
101-500	83	83	100 % (95,6 - 100 %)
501-1,000	87	87	100 % (95,8 - 100 %)
1,001-5,000	62	62	100 % (94,2 - 100 %)
>5,000	35	35	100 % (90,1 - 100 %)
Total	**312**	**311**	**99,7 % (98,2 - 99,9 %)**

   B. Sensibilité du test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* pour la détection de la pLDH spécifique de *P.f*

Nombre de parasites/uL de sang	Microscopie (Nombre de réactif)	Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v (Nombre de réactif)	Sensibilité (IC = 95 %)
≤50	6	3	50,0 % (11,8 - 81,2 %)
51-100	10	9	90,0 % (59,6 - 98,2 %)
101-500	25	24	96,0 % (80,5 - 99,3 %)
501-1,000	18	18	100 % (82,4 - 100 %)
1,001-5,000	29	29	100 % (88,3 - 100 %)
>5,000	23	23	100 % (85,7 - 100 %)
Total	**111**	**106**	**95,5 % (89,9 - 98,1 %)**

   C. Sensibilité du test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* pour la détection de la pLDH spécifique de *P.v*

Nombre de parasites/uL de sang	Microscopie (Nombre de réactif)	Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v (Nombre de réactif)	Sensibilité (IC = 95 %)
≤50	15	8	53,3 % (30,1 - 75,2 %)
51-100	30	29	96,7 % (83,3 - 99,4 %)
101-500	83	83	100 % (95,6 - 100 %)
501-1,000	87	87	100 % (95,8 - 100 %)
1,001-5,000	62	62	100 % (94,2 - 100 %)
>5,000	35	35	100 % (90,1 - 100 %)
Total	**312**	**304**	**97,4 % (95 - 98,7 %)**

   D. Sensibilité totale et spécificité du test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v*

Méthode de référence (Examen au microscope)	Résultat du test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v*		Total	Résultat (IC = 95 %)
	Réactif	Non réactif		
P.f HRP2 Réactif	311	1	312	**Sensibilité** 99,7 % (98,2 - 99,9 %)
P.f pLDH Réactif	304	8	312	**Sensibilité** 97,4 % (95 - 98,7 %)
P.v pLDH Réactif	106	5	111	**Sensibilité** 95,5 % (89,9 - 98,1 %)
Non réactif	2	298	300	**Spécificité** 99,3 % (97,6 - 99,8 %)

2. La reproductibilité du test Bioline™ Malaria Ag *P.f/P.f/P.v* a été démontrée à l'aide de panels de référence internes dans le cadre d'études intra-cycle, inter-cycles et inter-lots. Toutes les valeurs étaient identiques aux critères d'acceptation des panels de référence.
3. Les 26 Substance montrant une réactivité croisée suivantes n'ont aucun impact sur le résultat du test.

Type	Substance montrant une réactivité croisée	
Antigènes	Virus de la dengue type 1	Virus de la dengue type 2
	Virus de la dengue type 3	Virus de la dengue type 4
	AgHBs	Virus de la fièvre jaune
	Chikungunya	Rubéole
	Virus du Nil occidental (VNO)	
Antigène recombinant	*Plasmodium ovale*	*Plasmodium malariae*
Anticorps	Dengue	Anti-CMV
	VIH-1	Anti-EBV
	VIH-2	Parvovirus B19
	VHC	IgG/IgM du VZV
	HAMA	Syphilis
	Chagas	
Sérum	*Trypanosoma brucei gambiense*	*Trypanosoma brucei rhodesiense*
Sang total	*Plasmodium falciparum*	*Plasmodium vivax*

4. Les 36 substances potentiellement interférentes suivantes n'ont aucun impact sur le résultat du test.

Type	Substance potentiellement interférente		
Substance endogène	Albumine	Acide acétylsalicylique	Bilirubine (conjuguée)
	Cholestérol	Hémoglobine	Triglycérides
	Nicotine		
Substance exogène	Paracétamol	Amoxicilline	Céfalexine
	Doxycycline	Erythromycine	Ibuprofène
	Caféine	Héparine	Amodiaquine
	Désethylamodiaquine	Artéméther	Lumefantrine
	Artesunate	Dihydroartemesinine	Atovaquone
	Proguanil	Chloroquine	Clindamycine
	Dihydroartémisinine	Pipéraquine	Doxycycline
	Méfloquine	Primaquine	Quinine
	Sulfadoxine	Pyrimethamine	
Autoimmune Echantillon clinique	Le lupus erythémateux disséminé	Le syndrome de Sjogren	La polyarthrite rhumatoïde

5. Test pour la détection du paludisme en fonction du niveau de parasite.
   * HRP2 exprimée par *Plasmodium falciparum* : la sensibilité avec > 50 paras

Abbott

REF 05FK120

Bioline™

Malaria Ag P.f/P.f/P.v

Malaria HRP2 (P.f), pLDH (P.f) and pLDH (P.v) Antigen Rapid Test
Test de diagnostic rapide de l'antigène la protéine HRP2, de la pLDH de P.f et de la pLDH de P.v
Prueba paso de deteccion rápida de antígenos de HRP2 (P.f), pLDH (P.f) y pLDH (P.v) de la malaria
Teste rápido do antigénio Malaria HRP2 (P.f), pLDH (P.f) e pLDH (P.v)

PREPARATION / PRÉPARATION / PREPARACIÓN / PREPARAÇÃO

1

EN Open the package and look for the following:
1. Test device with desiccant in individual foil pouch
2. Assay diluent
3. Instructions for use
4. Disposable inverted cup (5 µl)
5. Sterile lancet
6. Alcohol swab

FR Ouvrir le kit et vérifier les éléments suivants:
1. Dispositif de test avec agent déshydratant emballés dans des pochette individuelles en aluminium
2. Diluant de dosage
3. Mode d'emploi
4. Une cupule de prélèvement à usage unique (5 µl)
5. Lancette stérile
6. Compresse d'alcool

ES Abra el empaque y busque a continuación:
1. Dispositivo de prueba con desecante en bolsa de papel de aluminio individuales
2. Diluyente del ensayo
3. Instrucciones de uso
4. Pipeta invertida desechable (5 µl)
5. Lanceta estéril
6. Hisopo de alcohol

PT Abra a embalagem e observe abaixo:
1. Dispositivo de teste com dessecante em bolsa de folha de alumínio individuais
2. Diluente de ensaio
3. Instruções de utilização
4. Ventosa invertida descartáveis (5 µl)
5. Lanceta esterilizada
6. Zaragatoa com álcool

2

EN First, read carefully the instruction on how to use Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v test kit.

FR Commencer par lire attentivement le mode d'emploi du kit de test Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v.

ES Primero, lea detenidamente las instrucciones de uso del kit de la prueba Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v.

PT Primeiro, leia com atenção as instruções de utilização do kit de teste Bioline™ Malaria Ag P.f/P.f/P.v.

3

EN Next, look at the expiration date on the back of the foil pouch. If the expiration date has passed, use another lot. To avoid false results, ensure that the assay diluent used is from the same kit as the new test device.

FR Vérifier ensuite la date d'expiration à l'arrière de l'emballage en aluminium. Si la date d'expiration est dépassée, utiliser un autre lot. Pour éviter tout faux résultat, s'assurer que le diluant du test utilisé provient du même kit que le nouveau dispositif de test.

ES A continuación, compruebe la fecha de caducidad en la parte posterior de la bolsa de papel de aluminio. Si la fecha de caducidad ha vencido, utilice otro lote. Para evitar resultados falsos, asegúrese de que el diluyente del ensayo utilizado es del mismo kit que el dispositivo de prueba nuevo.

PT A seguir, verifique o prazo de validade na parte posterior da bolsa de folha de alumínio. Se o prazo de validade tiver sido ultrapassado, utilize outro lote. Para evitar resultados falsos, certifique-se de que o diluente do ensaio utilizado é do mesmo kit que o novo dispositivo do teste.

4

EN Open the foil pouch and look for the following:
1. Result window
2. Specimen well
3. Assay diluent well

Then, label the device with the patient identifier.

FR Ouvrir l'enveloppe et vérifier les élément suivants:
1. Fenêtre de résultat
2. Puits d'échantillon
3. Puits pour le diluant

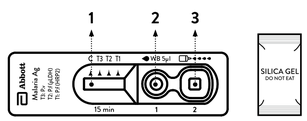
Étiqueter ensuite le dispositif avec l'identifiant patient.

ES Abra la bolsa de aluminio y busque lo siguiente:
1. Ventana de resultados
2. Pocillo de muestras
3. Pocillo para diluyente de prueba

A continuación, etiquete el dispositivo de prueba con la identificación del paciente.

PT Abra a bolsa de folha de alumínio e verifique se contém os seguintes itens:
1. Janela de resultados
2. Poço da amostra
3. Poço para o diluente do ensaio

Em seguida, coloque uma etiqueta no dispositivo com o identificador do paciente.



◀ WB 5µl : Whole blood 5 µl/ Sang total 5 µl/ Sangre 5 µl/ Sangue total 5 µl

▭▶◀◀◀◀◀ : Assay diluent 4 drops/ Diluant de dosage 4 gouttes/ Diluyentes del ensayo 4 gotas/ Diluente de ensaio 4 gotas

TEST PROCEDURE / PROCÉDURE DE TEST / PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA / PROCEDIMENTO DO TESTE

1

EN Clean the area to be lanced with an alcohol swab.

FR Nettoyer la surface à prélever à l'aide d'un tampon imbibé d'alcool.

ES Limpie la zona en la que se va a utilizar la lanceta con un hisopo con alcohol.

PT Limpe a área a ser lancetada com swab de álcool.

2

EN Prick the lateral side of the finger with the sterile lancet provided. Then, safely dispose of the lancet immediately after.

FR Piquer le côté latéral du doigt avec la lancette stérile fournie. Jeter la lancette immédiatement après conformément aux règles de sécurité.

ES Pinche el lado del dedo con la lanceta estéril suministrada. Deseche de forma segura la lanceta inmediatamente después.

PT Pique a lateral do dedo com a lanceta esterilizada fornecida. Em seguida, elimine a lanceta em segurança imediatamente após a utilização.

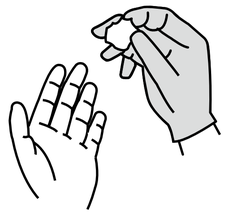
3

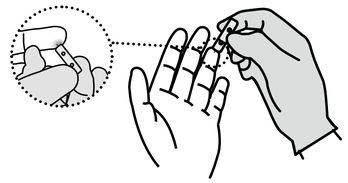
EN Wipe away the first drop of blood with sterile gauze or cotton.

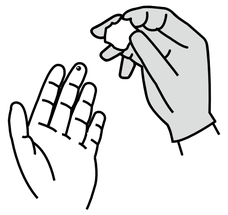
FR Essuyez la première goutte de sang avec du coton ou de la gaze stérile.

ES Limpie la primera gota de sangre con un algodón o una gasa estéril.

PT Limpe a primeira gota de sangue com gaze esterilizada ou algodão.







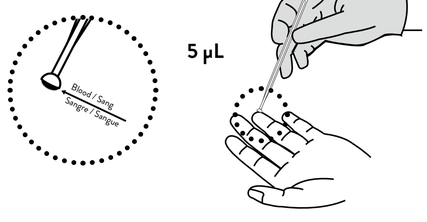
4

EN Using a disposable inverted cup (5 µl) provided, dip the circular end of a inverted cup into the blood specimen.

FR Prendre une cupule de prélèvement à usage unique (5 µl) fournie, immerger l'extrémité circulaire dans l'échantillon de sang.

ES Tome una pipeta invertida desechable (5 µl) sumistrada y sumerja el extremo circular de la pipeta invertida en la muestra de sangre.

PT Pegue numa das ventosas invertidas descartáveis (5 µl) fornecidas, coloque a extremidade circular da ventosa na amostra de sangue.



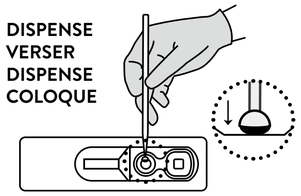
5

EN Dispense 5 µl of drawn blood into round specimen well.

FR Verser 5 µl de sang prélevé dans le puits d'échantillon rond.

ES Dispense 5 µl de la sangre extraída en el pocillo para muestras redondo.

PT Coloque 5 µl de sangue recolhido no poço redondo da amostra.



EN Use Inverted cup : Let the circular end of the inverted cup touch the pad, then press down lightly.

FR Avec la cupule de prélèvement : Laisser l'extrémité circulaire de la cupule de prélèvement toucher le tampon, puis appuyer légèrement.

ES Uso de la pipeta invertida: Deje que el extremo circular de la pipeta invertida entre en contacto con la almohadilla y presione ligeramente.

PT Use o copo invertido: Deixe que a extremidade circular do copo invertido toque a almofada de amostra, e aperte levemente para baixo.

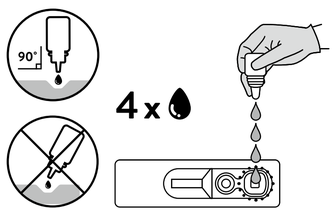
6

EN Hold assay diluent bottle vertically and dispense 4 drops of assay diluent into the assay diluent well.
Exactly, 4 drops should be added. Do not let bottle tip touch device in order to avoid cross-contamination.

FR Maintenir le flacon de diluant du dosage à la verticale et déposer 4 gouttes de diluant dans le puits de diluant.
4 gouttes doivent être ajoutées très exactement. Ne pas mettre l'embout du flacon en contact avec le dispositif afin d'éviter toute contamination croisée.

ES Sostenga en posición vertical el frasco del diluyente del ensayo y dispense 4 gotas de diluyente en el pocillo del diluyente del ensayo.
Deben añadirse exactamente 4 gotas. No deje que la punta del frasco toque el dispositivo a fin de evitar la contaminación cruzada.

PT Mantenha o frasco de diluente do ensaio na posição vertical e deite 4 gotas de diluente do ensaio no poço para o diluente do ensaio.
Devem ser adicionadas, exatamente, 4 gotas. Não deixe a ponta do frasco tocar no dispositivo de modo a evitar a contaminação cruzada.



7

EN Read the test result after 15 minutes.
⚠ **Caution:** Do not read test results after 30 minutes. ; reading after 30 minutes can yield erroneous results

FR Lisez le résultat du test au bout de 15 minutes.
⚠ **Attention:** ne lisez pas le résultat du test après 30 minutes. Passé ce délai de 30 minutes, les résultats peuvent être erronés.

ES Lea el resultado de la prueba después de 15 minutos.
⚠ **Precaución:** No lea los resultados de la prueba pasados 30 minutos. Leerlos después de 30 minutos puede producir resultados erróneos.

PT Leia o resultado do teste após 15 minutos.
⚠ **Atenção:** Não leia os resultados do teste após 30 minutos. A leitura após 30 minutos pode produzir resultados erróneos.



INTERPRETATION / INTERPRÉTATION / INTERPRETACIÓN / INTERPRETAÇÃO

NON-REACTIVE/ NON RÉACTIF / NO REACTIVO / NÃO-REATIVO

EN One line at **"C"** in the result window.

FR Une seule ligne **« C »** dans la fenêtre de résultat.

ES Una línea **"C"** en la ventana de resultados.

PT Uma linha **"C"** na janela do resultado.



REACTIVE / RÉACTIF / REACTIVO / REATIVO

EN ⚠ **Caution :** The presence of any test line, no matter how faint, the result is considered reactive.

FR ⚠ **Attention :** Si la ligne de test est présente, même très pâle, le résultat est considéré comme réactif.

ES ⚠ **Precaución:** Aunque sea débil, la presencia de la línea de prueba indica un resultado reactivo.

PT ⚠ **Atenção:** a presença de qualquer linha de test , mesmo sendo muito ténue, significa que o resultado é considerado reativo.

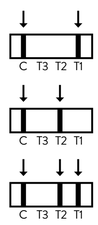
P.f Reactive / *P.f* Réactif / *P.f* Reactivo/ *P.f* Reativo

EN
1. **"C", "T1"** (Two lines) : HRP2 reactive
2. **"C", "T2"** (Two lines) : pLDH reactive
3. **"C", "T1"** and **"T2"** (Three lines) : pLDH and HRP2 reactive

FR
1. **« C », « T1 »** (deux lignes) : réactif pour HRP2
2. **« C », « T2 »** (deux lignes) : réactif pour pLDH
3. **« C », « T1 »** et **« T2 »** (trois lignes): réactif pour la pLDH et l'HRP2

ES
1. **"C" y "T1"** (dos líneas): reactivo de HRP2
2. **"C" y "T2"** (dos líneas): reactivo de pLDH
3. **"C", "T1" y "T2"** (tres líneas): reactivo de pLDH y HRP2

PT
1. **"C", "T1"** (duas linhas): reativo para HRP2
2. **"C", "T2"** (duas linhas): reativo para pLDH
3. **"C", "T1"** e **"T2"** (três linhas): reativo para pLDH e HRP2



P.v Reactive / *P.v* Réactif / *P.v* Reactivo / *P.v* Reativo

EN **"C"** and **"T3"** (Two lines) : pLDH of *P.v* reactive

FR **« C »** et **« T3 »** (deux lignes) : réactif pour la pLDH de P.v

ES **"C"** y **"T3"** (dos líneas): reactivo de pLDH de P.v

PT **"C"** e **"T3"** (duas linhas): reativo para pLDH de P.v



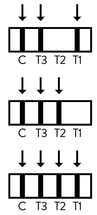
P.f and *P.v* Reactive result / Résultat réactif pour *P.f* et *P.v* / Resultado reactivo de *P.f* y *P.v* / Resultado reativo para *P.f* e *P.v*

EN
1. **"C", "T1"** and **"T3"** (Three lines)
2. **"C", "T2"** and **"T3"** (Three lines)
3. **"C", "T1", "T2"** and **"T3"** (Four lines)

FR
1. **« C », « T1 »** et **« T3 »** (trois lignes)
2. **« C », « T2 »** et **« T3 »** (trois lignes)
3. **« C », « T1 », « T2 »** et **« T3 »** (quatre lignes)

ES
1. **"C", "T1"** y **"T3"** (tres líneas)
2. **"C", "T2"** y **"T3"** (tres líneas)
3. **"C", "T1", "T2"** y **"T3"** (cuatro líneas)

PT
1. **"C", "T1"** e **"T3"** (três linhas)
2. **"C", "T2"** e **"T3"** (três linhas)
3. **"C", "T1", "T2"** e **"T3"** (quatro linhas)



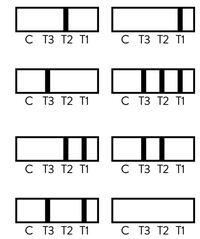
INVALID / NON VALIDE / NO VALIDO / INVÁLIDO

EN If the Control Line "C" is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. Instructions may not have been followed correctly or the test may have deteriorated beyond the expiration date. It is recommended that the specimen be retested using a new test device.

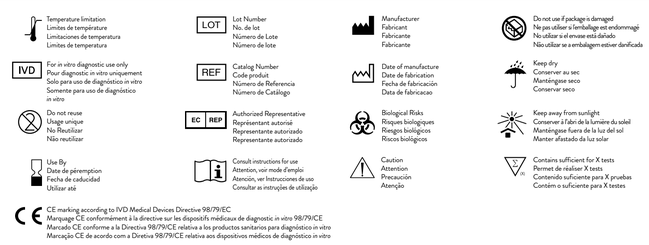
FR Si la ligne de contrôle « C » n'est pas visible dans la fenêtre de résultat après la réalisation du test, le résultat est considéré comme non valide. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test se soit détérioré au-delà de la date d'expiration. Il est recommandé d'analyser à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

ES Si la línea de control "C" no es visible en la ventana de resultados después de realizar la prueba, el resultado se considera no válido. Es posible que no se hayan seguido las instrucciones correctamente o que la prueba se haya deteriorado por haber superado la fecha de caducidad. Se recomienda volver a analizar la muestra usando un nuevo dispositivo de prueba.

PT Se a linha de controlo "C" não estiver visível dentro da janela de resultados após a realização do teste, o resultado é considerado inválido. As instruções podem não ter sido seguidas corretamente ou o teste pode ter-se deteriorado para além da data de validade. Recomenda-se que a amostra seja novamente testada utilizando um novo dispositivo de teste.



Glossary of symbols / Glossaire des symboles / Glosario de símbolos / Glossário de símbolos



APLICACIÓN Y USO

RVT-MDM (respiratory viral transport) es un medio de transporte para muestras con posible contenido de virus respiratorios.

COMPOSICIÓN

Caldo BHI*
Gentamicina*
Anfotericina B*
Albúmina bovina fracción V más conservantes.*

*Según Formulación recomendada por el Instituto Nacional de Salud (INS) de Colombia, en su experiencia propia y para atender la emergencia de la epidemia del COVID19. En el momento que sean modificados los componentes, se actualizará esta ficha.



MATERIALES ADICIONALES PARA SU USO NO SUMINISTRADOS

Bata desechable, guantes, gorro, protección ocular, mascarilla N-95.

METODOLOGÍA

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Es un medio enriquecido para el buen mantenimiento de virus respiratorios ya que estos virus son muy lábiles a condiciones del medio y a la temperatura. Adicionado con diferentes antibióticos para inhibir crecimiento microbiano como contaminante de la muestra.

CRITERIOS DE DESEMPEÑO

- ✓ Medio preparado: ámbar, líquido.
- ✓ Examine la fecha de vencimiento y signos de deterioro antes de su uso.
- ✓ Observe cualquier evidencia de contaminación, mal llenado, turbidez, cambios de color y signos de deshidratación y pérdida de volumen.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

- Este producto es estable a temperatura ambiente hasta 18 meses, de 4 – 25ºC.
- El medio de transporte debe ser almacenado, una vez tomada la muestra, de la siguiente manera: 72 horas a temperatura ambiente, durante un mes a -20ºC y durante seis (6) meses a -70ºC. Idealmente debe ser a -70ºC. Esta conservación es con el fin de evitar degradación de la albúmina, la cual protege la estructura del virus. No exponer a la luz directa (artificial o natural). En caso que se suministren en caja de cartón, mantenerlos almacenados al interior de esta.
- MDM Científica no garantiza la calidad de los medios de cultivo preparados que se almacenen en neveras no apropiadas para insumos de diagnóstico. No se recomienda el uso de neveras de uso doméstico que no tienen controlador preciso y calibrado de regulación de temperatura.

TIPO DE MUESTRA

Hisopados de garganta y nasofaringe.

PROCEDIMIENTO

Muestras para investigación de virus, deben recogerse y manejarse siguiendo los manuales y directrices de referencia. Muestras de vías respiratorias dentro de los 5 primeros días (máximo hasta los 10 primeros días) de inicio de síntomas. No se debe recolectar muestras a una persona asintomática.
Una vez que se realiza la recogida de una muestra mediante hisopo, debe colocarse inmediatamente en el medio de transporte.

Toma de muestra con hisopo: Tomar la muestra con hisopo estéril, dar giro para tomar suficiente muestra, llevar el hisopo con la muestra al vial RVT-MDM (respiratory viral transport), romper lo que sobra del hisopo y cerrar.

Identificar con nombre y cédula el RVT-MDM (respiratory viral transport).

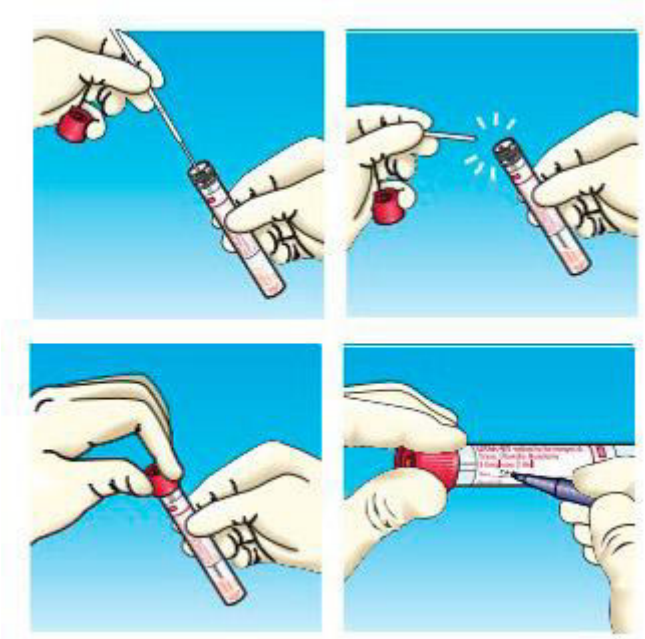


Gráfico tomado de: https://labhandbok.unn.no/provetaking/utm-rt-virus-transportmedium-article2673-823.html.

Para muestras que requieren ser enviadas por vía aérea, deben tenerse en cuenta las recomendaciones de la IATA, donde debe estar el contenedor primario con la muestra (RVT-MDM (respiratory viral transport).), adicional a esto un contenedor secundario, libre de

perforaciones, de paredes sólidas y firmes que no se deteriore con facilidad en caso de golpe y un contenedor terciario que puede ser la nevera de transporte, la cual contendrá los geles refrigerantes.
Las muestras al interior deben envolverse en papel absorbente, de manera que si hay un derrame, pueda contenerse allí el líquido.

Para mantener una viabilidad óptima, las muestras deben enviarse al laboratorio lo antes posible. La mejor recuperación se obtiene si las muestras se refrigeran a una temperatura de 2 °C a 8 °C o se mantienen sobre hielo después de la recogida y durante el transporte.

Si se presentan una demora larga antes de que se procesen, las muestras deben congelarse a –70 °C o a una temperatura inferior y transportarse sobre nieve carbónica (hielo seco).

Los requisitos específicos para el transporte y la manipulación de muestras deben ajustarse por completo a la normativa vigente.

El transporte de muestras dentro de las instituciones médicas debe cumplir sus directrices internas.

Todas las muestras deben procesarse en cuanto se reciban en el laboratorio.

LIMITACIONES, PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- ✓ El estado, el tiempo y el volumen de las muestras recogidas para el cultivo son variables significativas que influyen en la confiabilidad de los resultados de los cultivos. Siga las directrices recomendadas para la recogida de muestras.
- ✓ La congelación y descongelación repetida de las muestras puede disminuir la recuperación de microorganismos viables.
- ✓ Los hisopos con alginato de calcio son tóxicas para muchos virus con envoltura y pueden interferir con las pruebas de anticuerpos con fluorescencia, por lo que no deben utilizarse para la recogida de muestras. Tampoco deberían emplearse hisopos con varilla de madera porque pueden contener toxinas y formaldehídos. Los hisopos con punta de poliéster o con puntas de nailon floqueado son adecuadas cuando se puede realizar la recogida de muestras con un hisopo.

Todos los medios de cultivo deben ser manipulados por personal calificado y que hayan sido entrenados en procedimientos y técnicas microbiológicas.

TECNOLOGÍA O EQUIPO UTILIZADO: No Aplica

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Información técnica Instituto Nacional de Salud y bibliografía externa.

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
08404	Bolsa x 500 Tubos de reacción

MATERIAL	
Tubo y tapa de Polipropileno (PP) traslúcido. 	
VOLUMEN	• 1,5 mL
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Los tubos de centrífuga tienen la parte inferior cónica, con tapa articulada, graduación del molde y diseño resistente a las fugas, los cuales se utilizan para reacción y almacenamiento de muestras fluidas. Los tubos de reacción están listos para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlos y tomar las medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
AUTOCLAVABLE	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
REUSO	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.
ELIMINACIÓN	
• Si el tubo de reacción tiene contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico. • Si el tubo de reacción no tiene contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no	

COPIA DE DOCUMENTO

peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	03/May/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución, se incluye fotografía

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 03/May/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 05/May/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 05/May/2023	 **Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera **Cargo:** Gerente **Fecha:** 18/May/2023

COPIA DE DOCUMENTO

IMCOLMEDICA S.A.®
IMPORTADORA COLOMBIANA DE ELEMENTOS MÉDICOS

FICHA TÉCNICA



NOMBRE:	PAPEL FILTRO, CUALITATIVO 15 CMS		
REFERENCIA:	3.303.150	CODIGO DE PRODUCTO:	04403544
MARCA:	BOECO	PAIS:	ALEMANIA

USO:

PAPEL FLITRO DE ÁNALISIS CUALITATIVO VIENE EN CAJA X 100 DISCOS, CADA UNA CON DIFERENTES TAMAÑOS DE DISCO. GRACIAS A SU RESISTENCIA EN MOJADO, PUEDEN UTILIZARSE PARA FILTRAR POR PRESIÓN O POR VACÍO. TAMBIÉN PERMITEN SEPARAR FÁCILMENTE EL PRODUCTO DE LA FILTRACIÓN MEDIANTE CHORRO DE AGUA O ESPÁTULA.

COMPONENTES: PAPEL.

USOS O MODO DE EMPLEO:

SE UTILIZAN PARA USOS ANALÍTICOS Y TRABAJOS DE LABORATORIO GENERALES, CUANDO NO SE PRECISAN ANÁLISIS GRAVIMÉTRICOS.

PRECAUCIONES: NO USAR MATERIAL CORROSIVO

AQUISEL, S.L.	ESPECIFICACIÓN ARTÍCULO (COMERCIAL)	Doc. – Sub: ESP-1780225-01	Rev.: F
		Fecha / *Date*: 28/04/2014	Pág. 1/2

COD. AQUISEL	DESCRIPCIÓN	REF. COMERCIAL
1780225	PIPETA AQUISEL P-2 GRADUADA	**1780225**



Finalidad prevista

Pipeta de material plástico de un solo uso para la determinación de la Velocidad de Sedimentación Globular (V.S.G.), siguiendo las recomendaciones del Método Westergren (método recomendado por el Comité Internacional de Estandarización en Hematología).

Características de los materiales			
Pipeta	Poliestireno (PS)	Escala	Tinta azul
Filtro	Polietileno (PE)	Embolo	Termoplástico sintético (SEBS)

Características dimensionales			
Longitud total de la pipeta		230 ± 2 mm	
Longitud nominal hasta punto “0”		200 ± 2 mm	
Longitud escala graduada		170 mm	
Ø Exterior	4,55 ± 0,1 mm	Ø Interior	2,55 ± 0,15 mm

Recomendaciones de almacenamiento y conservación

Caducidad: 5 años desde su fabricación (ver etiqueta caja exterior)

No exponer al sol de forma continuada y almacenar a temperaturas entre 4 y 35ºC.

Presentación del producto		800 uds caja (4 x 200 uds)	
Dimensiones caja		55 x 27 x 26 (ancho x fondo x alto)	
Volumen	39 L	Peso aproximado	3,8 kg

Recomendaciones para la eliminación :

Aplicar la legislación vigente en materia de eliminación de material con riesgo biológico.

Por incineración a 500ºC el contenedor supone un residuo aproximado de un 2% de su masa (principalmente carbonato cálcico).

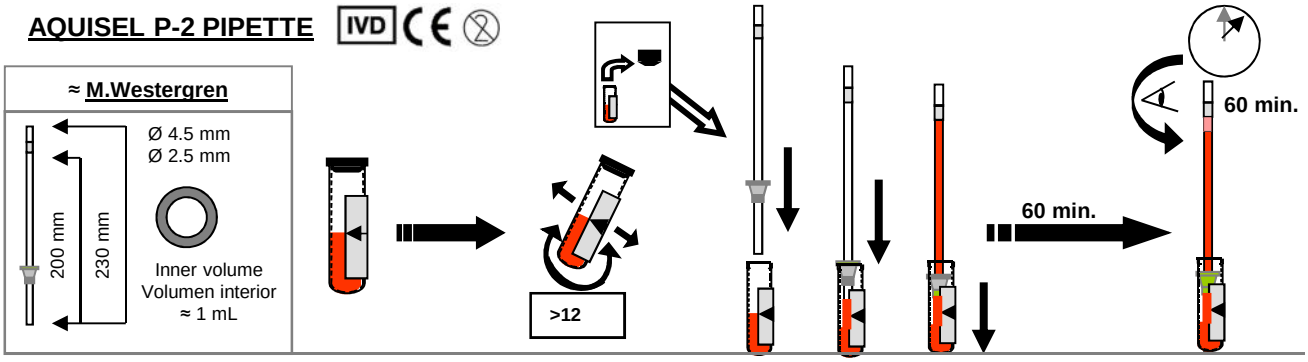
Legislación y normas de referencia :

Producto sanitario para el diagnóstico InVitro (IVD) según Dir. 98/79/CE # R.D. 1662/2000
Sistema de Gestión de Calidad : UNE EN ISO 9001 – 13485
Producto: UNE EN ISO 13079 ; Método Westergren ; Procedimiento H02 (CLSI).

file..1780225-01-F

Recomendaciones de utilización:

AQUISEL P-2 PIPETTE IVD CE



Recomendaciones del método:

1.- Utilizar tubo 75x13 o similar
2.- Debemos tratar la sangre con Citrato 3Na (1:4) ó EDTA, según procedimiento del laboratorio.
3.- Debemos asegurar un adecuado mezclado de la sangre con el anticoagulante tras la extracción y antes de la realización del llenado de la pipeta. Se recomienda al menos 12 movimientos de inversión del tubo.
4.- El volumen recomendado debe de ir entre 2 y 3 ml total para garantizar el llenado correcto de la pipeta (otros volúmenes son posibles según tipo de tubo).
5.- La determinación se recomienda realizar antes de las 4 horas tras la extracción, si se tarda más mantener la muestra refrigerada a 4ºC no más de 12 h. Las muestras refrigeradas deberemos atemperarlas y mezclarlas nuevamente antes de usarlas.
6.- Realizar la determinación en una sala con temperaturas entre 18 – 25ºC.
7.- La pipeta una vez llena (asegurarse que no hay presencia de burbujas y se ha llenado hasta el punto "0"), se colocará en posición vertical (90º). Se debe de proteger de la luz solar directa y evitar vibraciones.
8.- La lectura se efectúa a los 60 minutos (una segunda lectura puede realizarse a los 120 minutos, pero esto ya depende del proceder de cada laboratorio).

Recommendations of the method:

1.- Use 75x13 tube or similar
2.- According to the procedure of the laboratory, the blood should mix with EDTA or 3Na Citrate (1:4).
3.- A well-mixed blood to the anticoagulant after drawing and before filling the pipette must be ensure. There should be a minimum of 12 complete inversions.
4.- The volume recommended must be between 2 and 3 ml in total, in order to ensure the correct filling of the pipette (other volumes are possible according to type of tube)
5.- The test must be set up within 4 hours after the drawing, if it would be later the specimen should be in the refrigerator at 4ºC up to 12 hours and the specimen should be return to room temperature and mixing again before using it.
6.- The room must be between 18º - 25ºC.
7.- Once filling the pipette (ensuring the pipette is bubble-free and filling exactly to "0" mark), places in a vertical position (90º) in an area free of vibrations, drafts and direct sunlight.
8.- At 60 minutes read the distance (a second reading can be done at 120 minutes, but it is depend on each laboratory procedure).

Otras consideraciones:

Productos distribuido por : J.P. Selecta s.a. – Autovía A-2, Km 585,1 – 08630 – Abrera (Barcelona) España
Contacto comercial : tender@jpselecta.es

Productos fabricado por :

AQUISEL S.L. – Autovía A-2, Km 585,1
08630 Abrera (Barcelona) España

Contacto técnico: ecatalan@aquisel.es

Gonadotropina coriónica humana (HCG) de un solo paso
Prueba combinada de suero/orina

N° de cat.: C1102

1. USO PREVISTO

El kit de prueba de gonadotropina coriónica humana (HCG) es un ensayo inmunocromatográfico in vitro rápido y conveniente para la detección de la hormona HCG en suero u orina para el diagnóstico temprano del embarazo. La prueba proporciona un resultado cualitativo visual. Es importante contar con la revisión de un profesional para evaluar más a fondo el resultado de la prueba.

2. RESUMEN Y PRINCIPIO DEL ENSAYO

La HCG es una hormona producida por el tejido trofoblástico y aparece alrededor del día 8-9 después de la ovulación, o alrededor del día 4 después de la concepción. En un ciclo de 28 días con ovulación en el día 14, la HCG puede detectarse en orina o suero en cantidades mínimas alrededor del día 22 o 6 días antes de la menstruación esperada. La concentración de hormonas se duplica aproximadamente cada 2 días y alcanza su punto máximo entre 7 y 12 semanas después del primer día del último período menstrual. En mujeres normales, la HCG en la orina proporciona una indicación temprana de embarazo. Los niveles elevados de HCG también están asociados con enfermedades trofoblásticas y ciertas neoplasias no trofoblásticas. Por lo tanto, la posibilidad de otras enfermedades debe eliminarse antes de que se pueda realizar el diagnóstico de embarazo.

HCG consta de dos subunidades, alfa y beta. Las subunidades alfa de estas diversas hormonas glicoproteicas son estructuralmente muy similares, pero las subunidades beta difieren en las secuencias de aminoácidos. Estas diferencias son responsables de su especificidad biológica e inmunológica.

El kit de prueba de HCG de un solo paso es un ensayo inmunocromatográfico de captura de antígeno, que detecta la presencia de HCG en muestras de orina o suero humano. Los anticuerpos monoclonales específicamente contra HCG (unidad beta o alfa) son conjugados con oro coloidal depositados en la almohadilla de conjugado, inmovilizados en la línea de prueba de la membrana de nitrocelulosa. Cuando se agrega la muestra, el conjugado de oro- anticuerpo se rehidrata y la HCG, si la hay en las muestras, interactúa con los anticuerpos conjugados con oro. El complejo antígeno-anticuerpo-oro migrará hacia la ventana de prueba hasta la Zona de prueba (T) donde será capturado por los anticuerpos inmovilizados, formando una línea rosa visible (banda de prueba), lo que indica un resultado positivo. Si no hay HCG en la muestra, no aparecerá ninguna línea rosa en la zona de prueba (T), lo que indica un resultado negativo.

Como control de proceso interno, siempre debe aparecer una línea de control en la Zona de control (C) después de que se realiza la prueba. La ausencia de una línea de control rosa en la Zona de control es una indicación de un resultado Invalido.
El límite de detección para el kit de prueba de HCG es de 25 mUI/ml de HCG. Las muestras de orina que contengan niveles de HCG iguales o superiores al límite de detección darán positivo. Las muestras que contienen HCG a niveles inferiores al límite de detección también pueden producir una línea positiva muy tenue.

3. CONTENIDO DEL PAQUETE

- Casete de prueba.
- Cuentagotas.
- Desecante.
- Instrucción de prueba.

4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.
- No reutilizar.
- No lo use si el sello de la bolsa o su empaque están dañados.
- No lo use después de la fecha de vencimiento que se muestra en la bolsa.
- No mezcle ni intercambie especímenes diferentes.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos mientras manipula materiales potencialmente infecciosos.
- Lávese bien las manos después de terminar las pruebas.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manipulan los especímenes o kits.
- Limpiar los derrames con desinfectantes apropiados.
- Manipular todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra peligros microbiológicos a lo largo de los procedimientos de prueba.
- Deseche todas las muestras y los dispositivos usados en un contenedor de riesgo biológico adecuado. El manejo y disposición de los materiales peligrosos deben seguir las regulaciones locales, nacionales o regionales.
- Manténgase fuera del alcance de los niños.

5. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

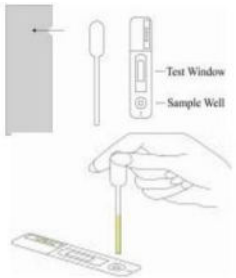
Orina

1. Cualquier muestra de orina es apropiada para la prueba de HCG, sin embargo, las muestras de orina recolectadas temprano en la mañana son los más deseables ya que la concentración de HCG es la más alta en ese momento.
2. Las muestras de orina se pueden recolectar en cualquier recipiente de plástico o vidrio limpio y seco (no incluido).
3. Si las muestras no se pueden analizar inmediatamente, se pueden almacenar a 2-8 °C hasta 48 horas antes de la prueba.
4. Si las muestras se encontraban refrigeradas, deben llevarse a temperatura ambiente y esperar que se atemperen antes de analizarlas.

Suero

1. Para muestras de suero, recoja la sangre en un tubo sin anticoagulante y deje que se coagule.
2. Para muestras de plasma, recolecte la sangre en un tubo que contenga anticoagulante.
3. Separar el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. No usar muestras hemolizadas.
4. Las pruebas deben realizarse inmediatamente después de que se hayan recolectado las muestras. no dejar las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados.

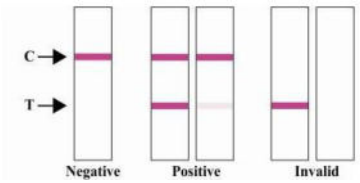
6. PROCEDIMIENTO DE PRUEBA



1. Retire el dispositivo de prueba de la bolsa sellada rasgando la muesca y coloque el dispositivo de prueba sobre una superficie nivelada.
2. Sostenga el gotero de muestra verticalmente. Agregue 4 gotas completas (0,2 ml) de muestra sin burbujas de aire en el pozo de muestra que está marcado con una flecha en el dispositivo de prueba.
3. Lea el resultado en 10 minutos, siguiendo las instrucciones en la sección "Resultado sección Interpretaciones".

   NOTA: Las muestras muy positivas pueden producir resultados positivos en tan poco tiempo como 1 minuto.
4. No lea los resultados después de 30 minutos.

7. INTERPRETACIONES DE RESULTADOS



Negativo

Aparece una banda de color rosa, solo en la región de control (C), lo que indica un resultado negativo para el embarazo.

Positivo

Aparece una banda de color rosa en la zona de control (C) y banda de color rosa intenso o claro en la zona de prueba (T), lo que indica un resultado positivo de embarazo.

Inválido

No hay banda visible en la zona de control (C). Repita con un nuevo dispositivo de prueba.

8. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El dispositivo de prueba en la bolsa sellada se puede almacenar a 2-30 °C hasta la fecha de vencimiento. No congele el dispositivo de prueba.
El dispositivo de prueba debe mantenerse alejado de la luz solar directa, la humedad y el calor.

9. LIMITACIONES

- Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no debe basarse en los resultados de una sola prueba, deben evaluarse todos hallazgos clínicos y de laboratorio.
- Aparte del embarazo, una serie de condiciones tales como enfermedades trofoblásticas, proteinuria, hematuria, coriocarcinoma, teratomas ováricos y testiculares pueden causar niveles elevados de HCG. Estos diagnósticos deben ser considerados y correlacionados con la evidencia clínica.

- Las sustancias que interfieren inmunológicamente, como las que se utilizan en los tratamientos de terapia con anticuerpos, pueden invalidar este ensayo.
- El embarazo ectópico no se puede distinguir del embarazo normal usando solo las mediciones de HCG.
- Las muestras de pacientes que reciben quimioterapia para el cáncer deben descartarse antes de realizar el ensayo.
- Los niveles positivos de HCG pueden detectarse durante varias semanas después del parto o aborto.
- Los especímenes que dieron positivo durante los primeros días después de la concepción pueden ser negativos más tarde debido a causas naturales.
- Interrupción del embarazo.

10. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO:

1) SENSIBILIDAD

El kit de prueba de gonadotropina coriónica humana (HCG) mostrará resultados positivos con muestras que contengan HCG en el nivel cercano o superior a 25 mIU/ml.

2) PRECISIÓN

Los estudios de comparación del kit de prueba de gonadotropina coriónica humana (HCG) con un dispositivo comercializado legalmente se realizaron internamente y en un laboratorio clínico de referencia. Se compararon los resultados positivos y negativos y se correlación fue 99 %.

3) ESPECIFICIDAD

Los siguientes compuestos no mostraron interferencia cuando se disolvieron en orina o suero, que tenían niveles de HCG de 0 y 25 mIU/ml.

3.1) Hormonas homólogas sin reacción cruzada

hFSH… .....1000 mIU/ml

hLH… 500mUI/ml

hTSH… 1000µUI/ml

3.2) Reactividad cruzada

La reactividad cruzada de los kits de prueba de hCG se evaluó con hormonas homólogas de hCG. Se añadieron hormonas homólogas FSH, LH y TSH a muestras que contenían hCG en concentraciones de 0, 25 y 100 mIU/mL.

No se observó reactividad en el estudio.

3.3) Reacción cruzada

La reacción cruzada de los kits de prueba de HCG se evaluó con la siguiente sustancia

Acetaminofén 20 mg/dl 20 mg/dl		tetraciclina	20 mg/dl
acetosal		Hemoglobina	20 mg/dl
Ácido salicílico	20 mg/dl	Albúmina	1000 mg/dl
Ácido ascórbico	20 mg/dl	Glucosa	20 mg/dl
Cafeína	20 mg/dl	cetona	20 mg/dl
gentísico	20 mg/dl	bilirrubina	20 mg/dl
tiofeno	20 mg/dl	Theelol	20 mg/dl
ampicilina	20 mg/dl	pregnadiona	20 mg/dl

3.4) Interferencia no específica

Se comprobó la prueba de hCG de un solo paso para detectar posibles interferencias de muestras visiblemente hemolizadas, lipémicas e ictéricas.

Se añadió hemoglobina humana, bilirrubina o albúmina a muestras con diferentes concentraciones de hCG y se analizaron utilizando muestras no enriquecidas como controles. No se observó interferencia significativa en 20 muestras con resultados que fueron positivo o negativo para hCG.

3.5) Rendimiento diagnóstico:

Se recolectaron 220 muestras de suero y 400 muestras de orina de sujetos seleccionados; cada muestra se ensayó con HCG de un solo paso y un kit ELISA disponible comercialmente en paralelo para evaluar la sensibilidad diagnóstica y Especificidad. La especificidad, la sensibilidad y la precisión general se calcularon después de combinar todos los resultados de la prueba, los Resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 1: Resultado de la prueba de muestras de suero clínico

Kit ELISA comercial	Kit de prueba de gonadotropina coriónica humana (HCG)		Total
	TPV	NEG	
TPV	91	2	93
NEG	0	127	127
Total	91	129	220

Tabla 2: Resultado de la prueba de muestras clínicas de orina

Kit ELISA comercial	Kit de prueba de gonadotropina coriónica humana (HCG)		Total
	TPV	NEG	
TPV	187	0	187
NEG	3	210	213
Total	190	210	400

Rendimiento diagnóstico de las pruebas con muestras de suero:
Sensibilidad diagnóstica: 91/ 93 × 100 % = 97,85 %
Especificidad diagnóstica: 127/127×100%=100%
Acuerdo general: (91+127)/220×100 %=99,09 %

Rendimiento diagnóstico de las pruebas con muestras de orina:
Sensibilidad diagnóstica: 187/187×100 %=100 %
Especificidad diagnóstica: 210/213 × 100 % = 98,59 %
Acuerdo general: (187+210)/400×100 %=99,25 %

Rendimiento diagnóstico general:
Sensibilidad diagnóstica: (91+187)/(93+187)×100%=99,29%
Especificidad diagnóstica: (127+210)/(127+213)×100%=99,12%
Acuerdo general: (91+127+187+210)/(220+400)×100 %=99,19 %

11. BIBLIOGRAFÍA

1) Batzer FR. Evaluación hormonal del embarazo temprano,Feril.Steril.1980:34(1):1-13

2) Catt KJ,ML Dufau, JL Vaitukatitis Aparición de HCG en el plasma del embarazo después del inicio de la implantación del blastocito, J ,Clin. Endocrino;. Metab.1975:40(3):537-540

3) Braunstein GD,J Rasor, H.Danzer, D Adler, ME Wade Niveles séricos de gonadotropina coriónica humana durante el embarazo normal .Am. J. Obstet. Gynecol.1976:126(6):678-681

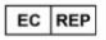
4) Lenton EA, LM Neal, R Sulaiman Concentración plasmática de gonadotropina coriónica humana desde el momento de implantación hasta la segunda semana de embarazo, Fertil, Steril. 1982:37(6):773-778

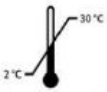
5) Steier JA, PB ergsjo, OL Myking Gonadotropina coriónica humana en plasma materno después de un aborto espontáneo y aborto inducido, extirpación ectópica, Obstet Gynecol.1984:64(3) 391-394

6) Dawood MY, BB Saxena, R Landesman Gonadotropina coriónica humana y sus subunidades en la mola hidatiforme y coriocarcinoma obstétrico. ginecol. 1977:50(2):172-1817. Braunstein GD ,JL Vaitukaitis, PP Carbone, GT Ross Producción ectópica.

Revisión: 20190319CA

ÍNDICE DE SÍMBOLOS

	Fabricante
	dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	representanteautorizadoenel Comunidad Europea
	Precaución
	Utilizar por fecha
	Código de lote
	Número de catalogo
	Mantener seco

	Manténgase alejado de la luz solar
	El límite de temperatura está entre 2 y 30 centígrados
	Contienesuficientepara<n>pruebas
	No usar
	Consultarinstruccionesdeuso
	No usar si el paquete está dañado



Atlas Link Technology Co., Limitado
Zona industrial del sur de Gu'an, 065500 ciudad de Langfang,
provincia de Hebei, República Popular de China
TELÉFONO: +703 366-3851 FAX: +703 366-3972
Correo electrónico: atlas9@atlaslink-inc.com
WEB: www.atlaslink-inc.com/english

EC REP MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, 66386 St. Ingbert Alemania
Correo electrónico: atlas96@starpower.net

Apoyo técnico
Conéctese a support@atlas-link.com para obtener soporte técnico.

Información de versión	
Ver. y fecha de	Contenido
actualización A1, 2022-05-10	Adaptación normativa

Última revisión/fecha de emisión: 20220510
Número de control: IVD-B04-0003 Ver. A1

ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA PUNTA AMARILLA 2 - 200 MICROLITROS BOLSA X 1000	CÓDIGO: FT-CID-160
		VERSIÓN: 1
		FECHA: 02/May/2023

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
08395	Bolsa x 1 000 Puntas

MATERIAL	
Polipropileno (PP) virgen color amarillo 	
VOLUMEN	• 2 - 200 µL
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Las puntas de color amarillo tienen anillo de nivel de llenado y su principal función es la absorción en pipetas automáticas, están listas para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlas y tomar las medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
AUTOCLAVABLE	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
REUSO	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.
ELIMINACIÓN	
• Si la punta ha tenido contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico.	

COPIA DE DOCUMENTO

- Si la punta no ha tenido contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/May/2023	- Creación del documento en plantilla de Isolución, se incluye fotografía del producto.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 02/May/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 02/May/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 02/May/2023	 **Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera **Cargo:** Gerente **Fecha:** 04/May/2023

COPIA DE DOCUMENTO

ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA PUNTA AZUL 50 - 1000 MICROLITROS BOLSA X 500	CÓDIGO: FT-CID-161
		VERSIÓN: 1
		FECHA: 02/May/2023

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
08407	Bolsa x 500 Puntas

MATERIAL	
Polipropileno (PP) virgen color azul. 	
VOLUMEN	• 50 - 1 000 µL
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Las puntas de color azul tienen anillo de nivel de llenado y su principal función es la absorción en pipetas automáticas, están listas para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlas y tomar las medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
AUTOCLAVABLE	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
REUSO	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.
ELIMINACIÓN	
• Si la punta ha tenido contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico.	

COPIA DE DOCUMENTO

- Si la punta no ha tenido contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

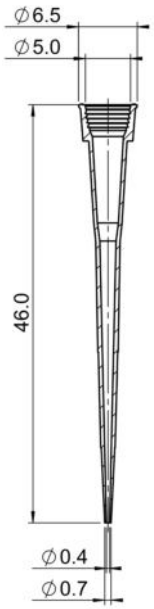
VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/May/2023	- Creación del documento en plantilla de Isolución, se incluye fotografía del producto.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 02/May/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 02/May/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 02/May/2023	 **Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera **Cargo:** Gerente **Fecha:** 04/May/2023

COPIA DE DOCUMENTO

0.5 – 20 µl Pipette tips
732004 | 732024

PRODUCT INFORMATION



Dimensions in mm

Volume	0.5 – 20 µl
Material	PP; autoclavable at 121 °C (2 bar) acc. to DIN EN 285
Color	transparent
Packaging	bulk
Quality	Produced under cleanroom conditions acc. to ISO 14 644-1 class 8, CE-marked acc. to EC-Directive 98/79 EC (IVD).

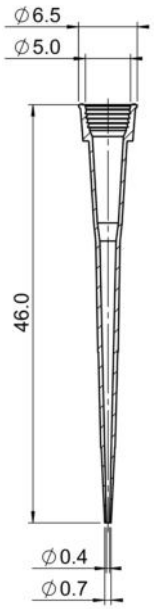
Subject to technical modification without notice. Errors excepted.

Status as of: October 2021

BRAND GMBH + CO KG | Otto-Schott-Str. 25 | 97877 Wertheim | Germany |T +49 9342 808 0 | F +49 9342 808 98000 | info@brand.de | www.brand.de

0.5 – 20 µl Pipette tips
732104 | 732204 | 732244

PRODUCT INFORMATION



Dimensions in mm

Volume	0,5 – 20 µl
Material	PP; autoclavable at 121 °C (2 bar) acc. to DIN EN 285
Color	transparent
Packaging	racked
Quality	Cleanroom class 8 according to ISO 14 644-1, Free of DNA*, RNase and DNase, Free of pyrogens, according to LAL test **, CE-marked acc. to EC-Directive 98/79 EC (IVD).

CERTIFIED BIO-CERT® QUALITY

* human and bacterial DNA, ** according to Limulus Amebocyte Lysate (LAL) test, detection limit 0.01 EU/ml

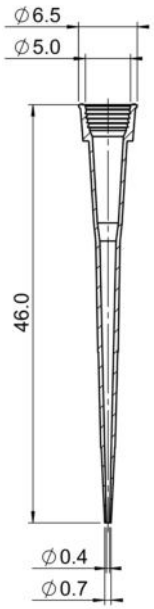
Subject to technical modification without notice. Errors excepted.

Status as of: October 2021

BRAND GMBH + CO KG | Otto-Schott-Str. 25 | 97877 Wertheim | Germany |T +49 9342 808 0 | F +49 9342 808 98000 | info@brand.de | www.brand.de

0.5 – 20 µl Pipette tips
732124 | 732224 | 732264

PRODUCT INFORMATION



Dimensions in mm

Volume	0,5 – 20 µl
Material	PP; autoclavable at 121 °C (2 bar) acc. to DIN EN 285
Color	transparent
Packaging	racked
Quality	Cleanroom class 8 according to ISO 14 644-1, Free of DNA*, RNase and DNase, Free of pyrogens, according to LAL test **, Sterile according to ISO 11 137, Free of ATP ,CE-marked acc. to EC-Directive 98/79 EC (IVD).

LIQUID HANDLING BIO-CERT® STERILE

* human and bacterial DNA, ** according to Limulus Amebocyte Lysate (LAL) test, detection limit 0.01 EU/ml

Subject to technical modification without notice. Errors excepted.

Status as of: October 2021

BRAND GMBH + CO KG | Otto-Schott-Str. 25 | 97877 Wertheim | Germany |T +49 9342 808 0 | F +49 9342 808 98000 | info@brand.de | www.brand.de

COLORACIÓN GRAM

Juego de soluciones para la coloración diferencial de GRAM para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos para la coloración de GRAM se utilizan para realizar tinciones de microorganismos de cultivos o muestras mediante el método diferencial de GRAM.

PRINCIPIO

La tinción de GRAM fue creada en 1884 por Christian Gram con la intención de distinguir las células bacterianas del tejido infectado. Aunque Gram observó lo que ahora se denomina la "reacción de Gram", no reconoció el valor taxonómico de su técnica. La tinción de GRAM ahora se utiliza para diferenciar las bacterias intactas y morfológicamente similares en dos grupos según el color de la célula después de la tinción. Además, se hacen evidentes la forma, el tamaño y los detalles estructurales de la célula. Dicha información preliminar proporciona indicios importantes en cuanto al tipo de organismo u organismos presentes y las técnicas ulteriores necesarias para caracterizarlos. La coloración de GRAM ha constituido un elemento fundamental para la taxonomía e identificación. Las bacterias GRAM positivas que presentan una gruesa capa de peptidoglicano como estructura fundamental por sobre la membrana citoplasmática, y las GRAM negativas, que encima de ésta, presentan una delgada capa de peptidoglicano, a la que se superpone una capa de lipopolisacáridos-lipoproteína, denominada membrana externa. La presencia de esta membrana diferencia actualmente dos divisiones en sistemática bacteriana: las que no lo poseen, Firmicutes (GRAM +) y las que sí, Gracilicutes (GRAM-). Esta coloración permite la clasificación de las bacterias en GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS SEGÚN LA COMPOSICIÓN DE SU PARED CELULAR. Por esto el complejo de color formado con la pared de las bacterias gram positivas no puede ser removido con el agente decolorante que es el alcohol acetona. La célula permanece de color azul violeta, en cambio las bacterias gram negativas, al decolorarse con el alcohol acetona, se dejan colorear con la fucsina ó safranina, quedando de color rosado

CONTENIDOS

R 1 **VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM**
–Listo para su uso
Violeta cristal, Amonio Oxalato, Agua desmineralizada tipo II

R 2 **LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM** -Listo para su uso
Yodo metálico, Yoduro de potasio, Agua desmineralizada tipo II

R 3 **ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM**
– Listo para su uso
Alcohol Etílico al 96%, Acetona

R 4 **FUCSINA BÁSICA GRAM** –Listo para su uso
Fucsina básica, Fenol, Alcohol etílico al 96%

Alternativa
SAFRANINA GRAM –Listo para su uso
Safranina, Alcohol etílico al 96%

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R3 ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son inflamables, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de tinción
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Líquidos corporales, exudados, material de colonias líquido o sólido.
Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme.
Emulsionar las colonias de un cultivo de 18 – 24 h en solución salina para obtener la densidad adecuada. Dejar que el frotis se seque al aire.
Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la tinción.

NOTA: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una tinción atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO

1. Cubrir la preparación (Placa) fijada con VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM por un (1) minuto.
2. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
3. Cubrir la preparación (Placa) con LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM por un (1) minuto.
4. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
5. Decolorar la placa con ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM Por 15 - 30 segundos hasta que la placa decolore totalmente.
6. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
7. Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM por un (1) minuto.
8. Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
9. Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de tinción, decoloración y lavado. Se ha encontrado que el mal uso del ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM en la fase de decoloración puede llegar a decolorar los gérmenes GRAM POSITIVOS.

RESULTADOS PREVISTOS

Microorganismos GRAM Positivos	**Azul-Violeta**
Microorganismos GRAM Negativos	**Rosa-Rojo**

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.
Los controles pueden realizarse con bacterias GRAM Positivas (Staphylococcus aureus) y bacterias GRAM Negativas (Escherichia coli).
Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18-24 horas.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La tinción de GRAM proporciona información de identificación primaria solamente, y no está diseñada para sustituir los estudios de cultivo de la muestra. Los resultados de tinción de GRAM deben confirmarse con procedimientos adicionales tales como análisis directo de antígenos y cultivos de los medios.
- Cualquier tratamiento anterior con antibióticos puede hacer que organismos grampositivos de una muestra aparezcan como gramnegativos.
- Se aconseja el uso de cultivos de 18 – 24 h para obtener resultados óptimos, dado que las células recientes tienen una mayor afinidad que las células de más antigüedad para la mayoría de los colorantes.
- La reacción de tinción de GRAM se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la tinción de GRAM de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Splengler, M.S., Rodeheaver, G.T., Richter, L., Edgerton, Edlich, R.F.. The Gram stain – The most important diagnostic test of infection. J.Am. College Emergency Physicians 7, 434-438. (1978).
3. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR
Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

2017-07v5

Abbott

Clearview™

FOB ONE STEP FECAL OCCULT BLOOD TEST DEVICE (FECES)

REF TFO-602

IVD

Revision date: 2023-09-11

Number: 40003745
V01

English: Package Insert Page 1
A rapid, one step test for the qualitative detection of Human Occult Blood in feces.

Español: Ficha Técnica Página 7
Prueba rápida de un solo paso para la detección cualitativa de sangre humana en heces.

Français: Mode d'Emploi Page 13
Test rapide en 1 étape pour la détection qualitative de Sang Occulte Humain dans les fèces.

Português: Folheto Informativo Página 19
Um teste rápido de uma etapa para a detecção qualitativa de sangue humano oculto nas fezes.

FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces)

EN

Package Insert

INTENDED USE

The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of Human Occult Blood in feces.
A rapid, one step test for the qualitative detection of Human Occult Blood in feces.
For professional *in vitro* diagnostic use only.

SUMMARY

Many diseases can cause hidden blood in the feces. This is also known as Fecal Occult Blood (FOB), Human Occult Blood, or Human Hemoglobin. In the early stages, gastrointestinal problems such as colon cancer, ulcers, polyps, colitis, diverticulitis, and fissures may not show any visible symptoms, only occult blood. Traditional guaiac-based methods lack sensitivity and specificity, and also have diet restrictions prior to testing.[1,2]

The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) is a rapid test to qualitatively detect low levels of Fecal Occult Blood. The test uses a double antibody sandwich assay to selectively detect Fecal Occult Blood at 50 ng/mL or higher, or 6 µg/g feces. In addition, unlike guaiac assays, the accuracy of the test is not affected by the diet of the patients.

PRINCIPLE

The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) is a qualitative, lateral flow immunoassay for the detection of Human Occult Blood in feces. The membrane is pre-coated with anti-hemoglobin antibody on the test line region of the test. During testing, the specimen reacts with the particle coated with anti-hemoglobin antibody. The mixture migrates upward on the membrane chromatographically by capillary action to react with anti-hemoglobin antibody on the membrane and generate a colored line. The presence of this colored line in the test line region indicates a positive result, while its absence indicates a negative result. To serve as a procedural control, a colored line will always appear in the control line region. If the control line does not appear, the test result is not valid.

REAGENTS

The test contains anti-hemoglobin antibody particles and anti-hemoglobin antibody coated on the membrane.

PRECAUTIONS

- Each test device is for single use only.
- Standard personal hygiene measures should be taken in the case of ingestion or direct eye contact with the buffer.
- Avoid touching finger directly to the specimen pad or result window of the test as this can cause incorrect results.
- For professional *in vitro* diagnostic use only. Do not use after expiration date.
- The test must remain in the sealed pouch until use.
- Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens or kits are handled.
- Do not use test if pouch is damaged.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions against microbiological hazards throughout the testing and follow standard procedures for proper disposal of specimens.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being tested.
- The used test should be discarded according to local regulations.
- Humidity and temperature can adversely affect results.
- Do not mix buffer from different lots.
- Need to read the results in the required time.
- Proper storage condition is critical to product performance.
- Once the foil pouch is opened, use the product as soon as possible.
- Test the product in the prescribed environmental condition.
- Use the correct specimen type.
- Do not recycle the test device.
- Maybe the bystander is contaminated with the biological material and sample in the testing process, so stay away from the bystander.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch either at room temperature or refrigerated (2-30°C). The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. **DO NOT FREEZE.** Do not use beyond the expiration date.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Specimens should not be collected during or within three days of a menstrual period, or if the patient suffers from bleeding hemorrhoids or blood in the urine.
- Alcohol, aspirin and other medications taken in excess may cause gastrointestinal irritation resulting in occult bleeding. Such substances should be discontinued at least 48 hours prior to testing.

- No dietary restrictions are necessary before using the FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces).

MATERIALS

Materials Provided

- Test devices
- Specimen collection tubes with extraction buffer (0.05M NaCl)
- Package insert

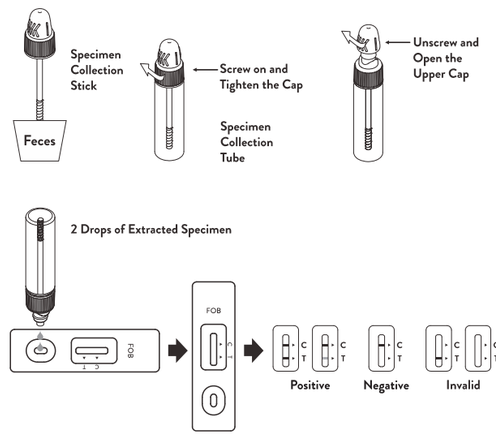
Materials Required But Not Provided

- Specimen collection container
- Timer

DIRECTIONS FOR USE

Allow test, specimen collection tube, specimen, and/or controls to equilibrate to room temperature (15-30°C) prior to testing.

1. To collect fecal specimens:
   Collect feces in a clean, dry specimen collection container. Best results will be obtained if the assay is performed within 2 hours after collection. Specimen collected may be stored for 1 days at 2-8°C if not tested within 2 hours.
   ***NOTE:** Considering the unexpected substances and/or microorganisms exist in feces may affect the stability of hemoglobin, it's best to test the feces as soon as possible.
2. To process fecal specimens:
   Unscrew the whole cap of the specimen collection tube, then randomly **stab the specimen collection stick into the fecal specimen in at least 3 different sites.** Do not scoop the fecal specimen.
   Screw on and tighten the cap onto the specimen collection tube, then **shake the specimen collection tube vigorously** to mix the specimen and the extraction buffer. Specimens prepared in the specimen collection tube may be stored for 3 days at room temperature (15-30°C) if not tested within 1 hour after preparation.
3. Remove the test device from the sealed pouch and use it as soon as possible. Do not touch the membrane of the strip.
4. Hold the specimen collection tube upright and then unscrew and open the upper cap. Invert the specimen collection tube and **transfer 2 full drops of the extracted specimen** (approx. 90 µL) to the specimen well of the test device, then start the timer. Avoid trapping air bubbles in the specimen well. See illustration below.
5. Wait for the colored line(s) to appear. **Read results at 5 minutes.** Do not interpret the result after 10 minutes.



INTERPRETATION OF RESULTS

(Please refer to the illustration above)

POSITIVE:* Two distinct colored lines appear. One line should be in the control line region (C) and another line should be in the test line region (T).
***NOTE:** The intensity of color in the test line region (T) will vary depending on the concentration of Fecal Occult Blood present in the specimen. Therefore, any shade in the test region indicates positive result.

NEGATIVE: One colored line appears in the control line region (C). No apparent colored line appears in the test line region (T).

INVALID: No line appears in the control line region (C). If this occurs, read the directions again and repeat the test with a new test. If the result is still invalid, stop using the test kit immediately and contact your local distributor.

QUALITY CONTROL

A procedural control is included in the test. A colored line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control.
Control standards are not supplied with this kit; however it is recommended that positive and negative controls be tested as a good laboratory practice to confirm the test procedure and to verify proper test performance.

LIMITATIONS

1. The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) is for *in vitro* diagnostic use only.
2. The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) will only indicate the presence of Fecal Occult Blood, the presence of blood in feces does not necessarily indicate colorectal bleeding.
3. Due to the high performance characteristic the FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) can obtain positive results when the specimen is below 50ng/mL in extraction buffer or 6µg/g in feces.
4. As with all diagnostic tests, all results must be considered with other clinical information available to the physician.
5. Other clinically available tests are required if questionable results are obtained.

EXPECTED VALUES

The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) has been compared with another leading commercial rapid test. The correlation between these two systems is 97.95% (95%CI:96.92% - 98.71%).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Accuracy

The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) has been compared with another leading commercial rapid test using clinical specimens.

Method		Other Rapid Test		Total Results
FOB One Step Test Device	Results	Positive	Negative	
	Positive	206	8	214
	Negative	14	847	861
Total Results		220	855	1,075

Relative Sensitivity: 93.6% (89.6% - 96.5%)* Relative Specificity: 99.1% (98.2% - 99.6%)*
Relative Accuracy: 97.95% (96.92% - 98.71%)* * 95% Confidence Intervals

Sensitivity

The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) can detect levels of Fecal Occult Blood as low as 50 ng/mL or 6 µg/g feces.

Specificity

Cross Reactivity

The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) is specific to human hemoglobin. Specimens containing the following substances were diluted in the extraction buffer to a concentration of 1.0 mg/mL, and tested on both positive and negative controls with no effect on test results: Bovine hemoglobin, Chicken hemoglobin, Pork hemoglobin, Goat hemoglobin, Horse hemoglobin, Rabbit hemoglobin and Turkey hemoglobin.

Interfering Substance

The FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) has been tested for specimens containing up to 20mg/dl Ascoribic acid, 60mg/dl Oxalic acid, 100mg/dl Bilirubin, 60mg/dl Uric acid, 20mg/dl Aspirin, 2,000mg/dl Urea, 2,000mg/dl Glucose and 40mg/dl Caffeine and all the results were found negative.

Precision

Intra-Assay

Within-run precision has been determined by using 10 replicates of three specimens: a negative, a low titer positive, and a high titer positive. The negative, low titer positive, high titer positive values were correctly identified >99% of the time.

Inter-Assay

Between-run precision has been determined by 10 independent assays on the same three specimens: The negative, low titer positive, high titer positive values. Three different lots of the FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) have been tested using negative, low titer positive and high titer positive specimens. The specimens were correctly identified >99% of the time.

FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces)

ES

Ficha Técnica

USO INDICADO

La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) es una prueba de inmuno ensayo cromatográfico para la detección cualitativa de sangre humana oculta en heces.
Prueba rápida de un solo paso para la detección cualitativa de sangre humana en heces.
Solo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

RESUMEN

Varias enfermedades pueden causar sangre oculta en heces. Esto es también conocido como sangre oculta en heces (SOH), sangre oculta humana o hemoglobina humana. En los estados primarios gastrointestinales como cáncer de colón úlceras, polipos, coltis, divertculitis y fisuras puede no mostrarse síntomas visibles, únicamente sangre oculta. Tradicionalmente métodos base Guaiac faltos de sensibilidad y de especificidad que también tienen restricciones de comidas antes de la pruebas.[1,2]
La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) es una prueba rápida para Detectar cualitativamente niveles bajos de sangre oculta en heces. La prueba utiliza un ensayo de sándwich doble de anticuerpo para selectivamente detectar sangre oculta en heces a 50 ng/ml o mayores o 6 µg/g heces. La exactitud de la prueba no se ve afectada por la dieta del paciente como sí son los ensayos Guaiac.

PRINCIPIO

La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) es un inmuno ensayo de flujo lateral cualitativo para la detección de sangre oculta humana en heces. La membrana es precubierta con un anticuerpo anti hemoglobina en la banda de la región de la prueba. Durante la prueba, el espécimen reacciona con partículas cubiertas con anticuerpo-hemoglobina, La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo de la prueba y genera una línea coloreada. La presencia de una línea coloreada en la banda de la región de la prueba indica un resultado positivo mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Como control del procedimiento, siempre aparecerá una línea coloreada en la zona de la línea de control. Si la línea de control no aparece, el resultado de la prueba no es válido.

REACTIVOS

La prueba en tiras contiene partículas de anticuerpos anti hemoglobina cubierto en la membrana.

PRECAUCIONES

- Los dispositivos de detección son de un solo uso.
- Es necesario tomar las medidas de higiene personal habituales en caso de ingestión de la solución tampón o de contacto ocular directo con ésta.
- Evite que el dedo entre en contacto directo con la almohadilla para la muestra o la ventana de resultados de la prueba, ya que los resultados obtenidos pueden ser incorrectos.
- Para Diagnóstico profesional *in vitro* únicamente. No usar la prueba después de la fecha de expiración .
- La prueba debe permanecer en el sobre sellado hasta su uso.
- No coma, beba o fume en el área donde el espécimen o los kit son manipulados.
- No utilizar la prueba si el sobre esta deteriorado.
- Maneje los especímenes como si contuviesen agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra cualquier daño microbiológico durante la prueba y siga los procedimientos estándares para un buen descarte de los especímenes.
- Use vestimenta protectora como mandiles de laboratorios, guantes descartables, protección para los ojos mientras los especímenes son examinados.
- La prueba, una vez utilizado, debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y temperatura pueden afectar los resultados adversamente.
- No mezcle tampones de distintos lotes.
- Debe leer los resultados en el momento requerido.
- Mantener unas condiciones de almacenamiento adecuadas es esencial para el rendimiento del producto.
- Una vez que se ha abierto la bolsa de aluminio, debe utilizar el producto lo antes posible.
- Pruebe el producto en las condiciones ambientales indicadas.
- Emplee el tipo de muestra correcto.
- No recicle el dispositivo de detección.
- Es posible que el observador esté contaminado con el material biológico y las muestras del proceso de análisis, por lo que debe alejarse de él.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene como viene empacado en el sobre sellado ya sea a temperatura ambiente o refrigerada (2-30°C). El dispositivo de casette de la prueba es estable hasta su fecha de expiración impreso en el sobre sellado. El dispositivo o casette de la prueba debe permanecer en su sobre sellado hasta su uso. **NO CONGELAR.** No utilizar la prueba después de la fecha de expiración.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- Los especímenes no deben ser coleccionados antes o durante el periodo menstrual o si el paciente sufre de sangrado de hemorroides o sangre en orina.
- Alcohol, aspirina y otros medicamentos tomados en exceso pueden causar irritación gastro intestinal resultando en sangrado oculto. Esta sustancias deben ser descontinuadas al menos 48 horas antes de la prueba.
- No se necesita ninguna restricción de dieta antes de usar la FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces).

MATERIALES

Materiales Suministrados

- Placas
- Tubos colectores de espécimen con bufer de extracción (0,05 M de NaCl)
- Ficha técnica

Materiales Requeridos no Suministrados

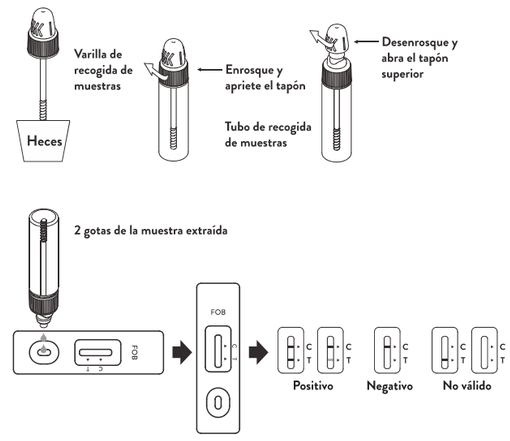
- Colector para la colección de la muestra
- Cronómetro

INSTRUCCIONES DE USO

Permita que e dispositivo o casette de la prueba, el tubo colector del espécimen, el espécimen, y/o controles se equilibren a temperatura ambiente (15-30°C) antes de la prueba.

1. Para colectar especímenes fecales:
   Colectar las heces en un recipiente limpio y seco. Los mejores resultados se obtendrán si el ensayo es realizado dentro de las 2 horas siguientes a la colección de la muestra. los especímenes colectados pueden ser almacenados por 1 días entre 2 y 8 °C si no han sido procesados durante las 2 primeras horas.
   ***NOTA:** Teniendo en cuenta que las sustancias inesperadas o los microorganismos que existen en las heces pueden afectar a la estabilidad de la hemoglobina, lo mejor es analizar las heces lo antes posible.
2. Para procesar los especímenes fecales:
   Desenrosque todo el tapón del tubo de recogida de muestras, después, **sírvase de la varilla de recogida de muestras para punzar al azar la muestra fecal en al menos 3 lugares distintos**. No saque el espécimen fecal.
   Enrosque y ajuste a tapa en el tubo colector del espécimen, **agite vigorosamente el tubo colector** para mezclar el espécimen y el bufer extractor. Las muestras preparadas en el tubo de recogida de muestras pueden guardarse durante 3 días a temperatura ambiente (15-30 °C) si no se analizan en un plazo de una hora desde la preparación.

3. Saque el dispositivo o casette del sobre sellado y utilícelo tan pronto sea posible. No toque la membrana de la tira de prueba.
4. Mantenga el tubo de recogida de muestras en posición vertical y después desenrosque y abra el tapón superior. Invierta el tubo colector del espécimen y **transfiera dos gotas completas del espécimen extraído** (aproximadamente 90 µl) al pozo del espécimen del dispositivo o casette de la prueba, luego comience el cronometrado. Evite trasladar burbujas de aire al pozo del espécimen. Mire o vea la figura de abajo.
5. Esperar hasta que aparezcan las líneas coloreadas. **Los resultado deben leerse a los 5 minutos.** No interpretar los resultados después de 10 minutos.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

(Consultar la figura anterior)

POSITIVO:* Dos líneas coloreadas aparecen. Una línea debe estar en la banda de región de control (C) y otra línea debe estar en la banda de la región de la prueba (T).
***NOTA:** La intensidad del color de la banda de la región de la prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración de la sangre oculta fecal presente en el espécimen. Por lo tanto cualquier tonalidad del color en la región de la prueba (T) debe ser considerado positivo.

NEGATIVO: Una línea coloreada aparece en la banda de control de la región (C). Ningún color aparente aparece en la banda de la región de la prueba (T).

NO VÁLIDO: No aparece ninguna línea en la zona de la línea de control (C). Si esto ocurre, lea las indicaciones de nuevo y repita la prueba con una prueba nueva. Si el resultado sigue sin ser válido, deje de utilizar el kit de prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD

Un proceso de control esta incluido en la prueba. Una línea coloreada que aparece en la banda de la región de control (C) es considerada un procedimiento de control interno.
Estándares de control no son proporcionados con este kit, sin embargo se recomienda controles positivos y negativos para ser usados con la prueba como una buena práctica de laboratorio y para verificar una buena perfomance de ella.

LIMITACIONES

1. La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) es para uso de diagnóstico *in vitro* únicamente.
2. La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) la presencia de sangre en heces no necesariamente indica sangrado colorectal.
3. Debido a la característica de alto rendimiento, FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) puede obtener resultados positivos cuando la muestra tiene un valor inferior a 50 ng/ml en el tampón de extracción o 6 µg/g en las heces.
4. Al igual que cualquier prueba de diagnóstico, todos los resultados deben ser considerados con otras informaciones clínicas por el médico.
5. Otras pruebas clínicas disponibles se requieren si se obtienen resultados cuestionables.

VALORES ESPERADOS

La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) ha sido comparada con otras pruebas rápidas comerciales líderes. La correlación de estos dos sistemas es de 97,95% (IC del 95%:96,92% - 98,71%).

CARACTERISTICAS TÉCNICAS

Exactitud

La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) ha sido comparada con una pruebas rápidas comercial líder utilizando muestras clínicas.

Método		Otra Prueba Rápida		Resultados Totales
FOB One Step Test Device	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	206	8	214
	Negativo	14	847	861
Resultados Totales		220	855	1075

Sensibilidad relativa: 93,6% (89,6%-96,5%)* Especificidad Relativa: 99,1% (98,2%-99,6%)*
Exactitud relativa: 97,95% (96,92% - 98,71%)* *95% Intervalos Confidenciales

Sensibilidad

La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) puede ser detectada a niveles de sangre oculta humana tan bajos como 50 ng/ml o 6 µg/g.

Especificidad

Reactividad Cruzada

La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) es específica a hemoglobina humana. Especímenes que contienen las sustancias siguientes fueron diluidas en el bufer de extracción a condensaciones de 1,0 mg/ml y examinadas con controles negativos, sin ningún efecto negativo en la prueba: hemoglobina bovina, hemoglobina avícola, hemoglobina de cerdo, hemoglobina canina, hemoglobina de caballo, hemoglobina de conejo y hemoglobina de pavo.

Sustancias interferentes

La FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) se ha probado con muestras que contenían hasta 20 mg/dl de ácido ascórbico, 60 mg/dl de ácido oxálico, 100 mg/dl de bilirrubina, 60 mg/dl de ácido úrico, 20 mg/dl de ácido acetilsalicílico, 2000 mg/dl de urea, 2000 mg/dl de glucosa y 40 mg/dl de cafeína y todos los resultados fueron negativos.

Precisión

Intra-Ensayo

La precisión intraanálisis se ha determinado usando 10 copias de tres muestras: una negativa, una con valor positivo bajo y una con valor positivo alto. Los valores negativo, positivo bajo y positivo alto se identificaron correctamente en más del 99% de los casos.

Inter-Ensayo

La precisión interanálisis se ha determinado mediante 10 ensayos independientes con las mismas tres muestras: Los valores negativo, positivo bajo y positivo alto. Se han examinado tres lotes diferentes de la FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) usando muestras con valores negativo, positivo bajo y positivo alto. Las muestras se identificaron correctamente en más del 99% de los casos.

FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces)

FR

Mode d'Emploi

INDICATIONS

La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) est un test immunologique de chromatographie rapide qui permet la détection qualitative du Sang Occulte Humain dans les fèces.
Test rapide en 1 étape pour la détection qualitative de Sang Occulte Humain dans les fèces.
Pour diagnostic *in vitro* à usage professionnel uniquement.

RESUME

Beaucoup de maladies peuvent causer le sang dissimulé dans les fèces. Ceci est également connu sous le nom de Sang Occulte Fécal (FOB), Sang Occulte Humain ou Hémoglobine Humaine. Pendant les premiers stades, les problèmes gastro-intestinaux comme le cancer du colon, les ulcères, les polypes, les colites, les diverticulites et les fissures, ne montrent aucun symptôme visible, seulement du sang occulte. Les méthodes de guaiac traditionnelles manquent de sensibilité et de spécificité, et imposent des restrictions alimentaires avant le test. [1,2]
La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) est un test rapide qui permet de détecter des niveaux assez bas de Sang Occulte Fécal. Le test utilise une double méthode sandwich d'anticorps pour détecter de manière sélective le Sang Occulte Fécal à 50 ng/ml ou plus, ou 6 µg/g de fèces. En plus, à la différence des tests guaiac, la précision du test n'est pas affecté par le régime alimentaire des patients.

PRINCIPE

La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) est un test immunologique de chromatographie rapide qui permet la détection qualitative du Sang Occulte Humain dans les fèces. La membrane est recouverte d'anticorps anti-hémoglobines dans la zone test. Pendant le test, l'échantillon réagit avec la particule couplée avec l'anticorps anti-hémoglobine. Le mélange se déplace le long de la membrane chromatographiquement par capillarité pour réagir avec l'anticorps anti-hémoglobine sur la membrane et générer une ligne colorée. La présence d'une ligne colorée au niveau de la zone de test indique un résultat positif, alors que son absence indique un résultat négatif. En guise de procédure de contrôle, une ligne colorée apparaîtra toujours dans la zone de contrôle. Si la ligne de contrôle n'apparaît pas, le résultat n'est pas valide.

REACTIFS

La cassette contient des particules d'anticorps anti-hémoglobines et des anticorps anti-hémoglobines fixées sur la membrane.

PRECAUTIONS

- Chaque cassette de test est à usage unique.
- En cas d'ingestion du tampon ou de contact direct avec les yeux, des mesures d'hygiène personnelle standard doivent être prises.
- Éviter de toucher directement du doigt le tampon d'échantillon ou la fenêtre de résultat du test au risque d'obtenir des résultats erronés.
- Pour diagnostic *in vitro* à usage professionnel exclusivement. Ne pas utiliser après la date de preemption.
- La cassette test doit rester dans le sachet scellé jusqu'à utilisation.
- Ne pas manger, boire ou fumer aux endroits où les échantillons et les kits sont manipulés.
- Ne pas utiliser le test si le sachet est endommagé.
- Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Manipuler le test avec les précautions d'usage réservées aux agents infectieux et suivre les procédures concernant l'élimination des échantillons.
- Porter des habits de protection tels que des blouses de laboratoire, des gants jetables et des protections pour les yeux lors de la manipulation des échantillons.
- Le test, une fois utilisé, doit être éliminé selon les procédures locales.
- L'humidité et la température peuvent perturber les résultats.
- Ne pas mélanger des tampons provenant de différents lots.
- Il est nécessaire de lire les résultats dans le temps imparti.
- Des conditions de stockage appropriées sont essentielles au bon fonctionnement du produit.
- Une fois que le sachet métallisé est ouvert, utiliser le produit le plus vite possible.
- Tester le produit dans les conditions environnementales préconisées.
- Utiliser le bon type d'échantillon.
- Ne pas recycler la cassette de test.
- Il est possible qu'un tiers soit contaminé par la substance biologique et l'échantillon au cours du processus de test, il convient donc de se tenir éloigné de celui-ci.

CONSERVATION ET STABILITE

Conserver le sachet scellé à température ambiante ou réfrigérée (2-30°C). La cassette est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur le sachet scellé. La cassette doit être conservée dans le sachet scellé jusqu'à utilisation. **NE PAS CONGELER.** Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption.

RECUEIL ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons ne doivent pas être prélevés pendant les 3 jours de la période des règles, ou si le patient souffre de saignement hémorroidal ou urinaire.
- L'alcool, l'aspirine et autres médicaments consommés de manière excessive peuvent causer des irritations gastro-intestinales qui provoquent un saignement occulte. Ces substances doivent être évitées au moins 48 heures avant le test.
- Aucune restriction du régime alimentaire n'est imposée avant l'utilisation de la cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) .

COMPOSANTS

Matériel fourni

- Cassettes
- Tubes de prélèvement d'échantillons avec solution tampon (0,05 M de NaCl)
- Mode d'emploi

Matériel nécesaire non fourni

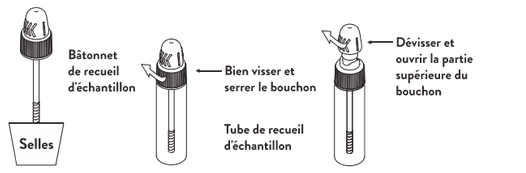
- Récipient pour prélèvement d'échantillon
- Chronomètre

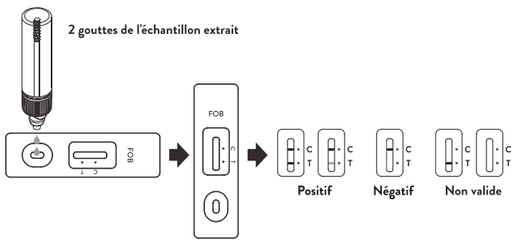
PROCEDURE

Laisser les cassettes, les tubes de prélèvement d'échantillons, les échantillons et/ou les contrôles revenir à température ambiante (15-30°C) avant utilisation.

1. Prélever les échantillons fécaux:
   Prélever les fèces dans un récipient propre et sec. Les meilleurs résultats sont obtenus si le test est effectué dans les 2 heures qui suivent le prélèvement. Les échantillons peuvent être conservés pendant 1 jours à 2-8°C si le test n'est pas fait au bout de 2 heures.
   ***NOTE:** dans la mesure où des substances et/ou des micro-organismes inattendus existant dans les selles peuvent affecter la stabilité de l'hémoglobine, il est recommandé de tester les selles dès que possible.
2. Traiter les échantillons fécaux:
   Dévisser le bouchon du tube de recueil d'échantillon, puis **insérer le bâtonnet de recueil d'échantillon de manière aléatoire dans l'échantillon fécal à au moins 3 endroits différents**. Ne pas prélever l'échantillon par cuillerée.
   Revisser et bien serrer le bouchon sur le tube de prélèvement d'échantillons, puis **secouer fortement le tube** pour mélanger l'échantillon avec la solution tampon. Les échantillons préparés dans le tube de recueil d'échantillon peuvent être conservés pendant 3 jours à température ambiante (entre 15 et 30 °C) s'ils ne sont pas analysés dans l'heure qui suit leur préparation.

3. Retirer la cassette test du sachet scellé et l'utiliser aussitôt que possible. Ne pas toucher la membrane de la bandelette.
4. Maintenir le tube de recueil d'échantillon droit, puis dévisser et ouvrir la partie supérieure du bouchon. Retourner le tube et **verser 2 gouttes pleines de l'échantillon extrait** (approx. 90 µl) dans le puits à échantillon de la cassette, puis déclencher le chronomètre. Voir illustration ci-dessous.
5. Attendre que la ou les ligne(s) colorée(s) apparaîsse(nt). **Lire résultat au bout de 5 minutes.** Ne pas interpréter le résultat au-delà de 10 minutes.





INTERPRETATION DES RESULTATS

(Conformément illustration ci-dessous)

POSITIF:* Deux lignes colorées distinctes apparaissent. Une ligne doit être dans la zone de contrôle (C) et une autre ligne dans la zone de test (T).

***NOTE:** L'intensité de la couleur dans la zone de test (T) peut varier selon la concentration du Sang Occulte Fécal présent dans l'échantillon. Pour cette raison, toutes les nuances de couleur dans la zone de test (T) doivent être considérées comme positif.

NEGATIF: Une ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle (C). Aucune ligne colorée n'apparaît dans la zone de test (T).

NON VALIDE: Aucune ligne n'apparaît dans la zone de contrôle (C). Dans ce cas, lisez à nouveau les instructions et répétez le test en utilisant un autre test. Si le résultat est toujours non valide, cesser immédiatement d'utiliser le kit de test et contacter le distributeur local.

CONTROLE DE QUALITE

Une procédure de contrôle interne est incluse dans le test. L'apparition d'une ligne colorée au niveau de la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle de procédure interne.
Ce kit ne comprend pas de contrôles standards; cependant, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est toutefois recommandé de tester des contrôles positifs et négatifs pour s'assurer de la procédure et vérifier la bonne performance du test.

LIMITES

1. La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) est un test diagnostic *in vitro* à usage professionnel uniquement.
2. La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) indiquera seulement la présence du Sang Occulte Fécal, la présence de sang dans les fèces n'indiquant pas nécessairement un saignement colorectal.
3. En raison de ses performances élevées, la cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) peut donner des résultats positifs en présence d'un échantillon présentant une concentration inférieure à 50 ng/ml dans le tampon d'extraction ou à 6 µg/g dans les matières fécales.
4. Comme pour les tous les tests diagnostiques, tous les résultats doivent être considérés avec d'autres informations cliniques connues du médecin traitant.
5. D'autres test cliniques sont nécessaires si les résultats obtenus sont discutables.

VALEURS ATTENDUES

La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) a été comparée avec un autre test rapide commercialement connu. La corrélation entre ces deux systèmes est de 97,95% (IC à 95%:96,92% - 98,71%).

PERFORMANCE

Exactitude

La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) a été comparée avec un test rapide commercialement connu en utilisant les échantillons cliniques.

Méthode		Autre Test Rapide		Total des Résultats
FOB One Step Test Device	Résultats	Positif	Négatif	
	Positif	206	8	214
	Négatif	14	847	861
Total des Résultats		220	855	1.075

Sensibilité relative: 93,6% (89,6% - 96,5%)* Spécificité relative: 99,1% (98,2% - 99,6%)*
Exactitude relative:97,95% (96,92% - 98,71%)* * 95% Intervalle de confiance

Sensibilité

La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) peut détecter des niveaux de sang occulte humain aussi bas que 50 ng/ml ou 6 µg/g de fèces.

Spécificité

Réactivité Croisée

La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) est spécifique à l'hémoglobine humaine. Les échantillons contenus dans les substances suivantes ont été dilués dans une solution tampon à une concentration de 1,0 mg/ml, et testés sur des contrôles positifs et négatifs sans aucun effet sur les résultats du test: hémoglobine de Boeuf, hémoglobine de Poule, hémoglobine de Porc, hémoglobine de Chèvre, hémoglobine de Cheval, hémoglobine de Lapin et hémoglobine de Dinde.

Substances interférentes

La cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) a été testée avec des échantillons contenant jusqu'à 20 mg/dl d'acide ascorbique, 60 mg/dl d'acide oxalique, 100 mg/dl de bilirubine, 60 mg/dl d'acide urique, 20 mg/dl d'aspirine, 2.000 mg/dl d'urée, 2.000 mg/dl de glucose et 40 mg/dl de caféine et tous les tests ont été négatifs.

Précision

Intra- Session

La précision à l'intérieur d'une série a été déterminée en utilisant 10 répliques de trois échantillons : un échantillon négatif, un échantillon faiblement positif et un échantillon fortement positif. Les valeurs de l'échantillon négatif, de l'échantillon faiblement positif et de l'échantillon fortement positif ont été correctement identifiées plus de 99% du temps.

Inter- Session

La précision entre les séries a été déterminée par 10 essais indépendants sur les trois mêmes échantillons : les valeurs de l'échantillon négatif, de l'échantillon faiblement positif et de l'échantillon fortement positif. Trois lots différents de la cassette FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) ont été testés avec des échantillons à titre négatif, faiblement positif et fortement positif. Les échantillons ont été correctement identifiés plus de 99% du temps.

USO PREVISTO

O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) é um imunoensaio cromatográfico rápido para a detecção qualitativa de sangue humano oculto nas fezes.
Um teste rápido de uma etapa para a detecção qualitativa de sangue humano oculto nas fezes.
Somente para uso profissional de diagnóstico *in vitro*.

RESUMO

Muitas doenças podem causar sangue oculto nas fezes. Também é conhecido como sangue fecal oculto (FOB), sangue humano oculto ou hemoglobina humana. Nos estágios iniciais, problemas gastrintestinais, como câncer de cólon, úlceras, pólipos, colite, diverticulite e fissuras podem não mostrar nenhum sintoma visível, apenas sangue oculto. Os métodos tradicionais baseados em guáiaco não têm sensibilidade e especificidade, e também têm restrições alimentares antes dos testes.[1,2]

O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) é um teste rápido para detectar níveis de sangue fecal oculto qualitativamente baixos. O teste usa um ensaio sanduíche de anticorpos duplo para detectar seletivamente sangue fecal oculto a 50 ng/mL ou mais, ou em 6 µg/g de fezes. Além disso, diferentemente dos ensaios de guáiaco, a dieta dos pacientes não afeta a exatidão do teste.

PRINCÍPIO

O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) é um imunoensaio qualitativo de fluxo lateral para a detecção de sangue humano oculto nas fezes. A membrana é pré-revestida com anticorpos anti-hemoglobina na região da linha de teste do teste. Durante o teste, a amostra reage com a partícula revestida com anticorpos anti-hemoglobina. A mistura migra para cima na membrana cromatograficamente por ação capilar para reagir com anticorpos anti-hemoglobina na membrana e gerar uma linha colorida. A presença dessa linha colorida na região da linha de teste indica um resultado positivo, enquanto sua ausência indica um resultado negativo. Servindo como controle de procedimento, uma linha colorida sempre aparecerá na região da linha de controle. Se a linha de controle não aparecer, o resultado do teste não é válido.

REAGENTES

O teste contém partículas de anticorpos anti-hemoglobina e anticorpos anti-hemoglobina revestidos na membrana.

PRECAUÇÕES

- Cada dispositivo de teste é para uso único somente.
- Medidas padrão de higiene pessoal devem ser tomadas em caso de ingestão ou contato direto dos olhos com o tampão.
- Evite tocar o dedo diretamente na almofada para amostra ou janela de resultado do teste, pois isso pode gerar resultados incorretos.
- Somente para uso diagnóstico *in vitro*. Não use após a data de validade.
- O teste deve permanecer na embalagem lacrada até o uso.
- Não comer, beber ou fumar na área onde as amostras ou kits são manuseados.
- Não use o teste se a embalagem estiver danificada.
- Manuseie todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Observe as precauções estabelecidas contra os riscos microbiológicos durante o teste e siga os procedimentos padrão para o descarte correto das amostras.
- Use equipamentos de proteção individual (EPI) tais como jalecos, luvas descartáveis e óculos de proteção quando as amostras forem testadas.
- O teste usado deve ser descartado de acordo com as regulamentações locais.
- Umidade e temperatura podem afetar adversamente os resultados.
- Não misture tampão de lotes diferentes.
- É necessário realizar a leitura dos resultados no tempo exigido.
- Condições adequadas de armazenamento são essenciais para o bom desempenho do produto.
- Quando a bolsa laminada for aberta, use o produto o mais rapidamente possível.
- Teste o produto nas condições ambientais prescritas.
- Use o tipo correto de amostra.
- Não recicle o dispositivo de teste.
- Existe a possibilidade de que observadores não participantes sejam contaminados pelo material biológico e pela amostra durante o processo de análise; portanto, mantenha pessoas não envolvidas com o teste distantes.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Armazene conforme fornecido na embalagem lacrada em temperatura ambiente ou refrigerada (2 °C a 30 °C). O teste é estável até a data de validade impressa na embalagem lacrada. O teste deve permanecer na embalagem lacrada até o uso. **NÃO CONGELE.** Não use após a data de validade.

COLETA E PREPARO DA AMOSTRA

- As amostras não devem ser coletadas durante ou dentro de três dias do período menstrual ou se a paciente sofrer de hemorragia causada por hemorroidas ou por sangue na urina.

- Álcool, aspirina e outros medicamentos tomados em excesso podem causar irritação gastrintestinal, resultando em sangramento oculto. Essas substâncias devem ser descontinuadas pelo menos 48 horas antes do teste.
- Não são necessárias restrições alimentares antes de usar o FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces).

MATERIAIS

Materiais fornecidos

- Dispositivos de teste
- Tubos de coleta de amostras com tampão de extração (0,05 M NaCl)
- Folheto informativo

Materiais necessários, mas não fornecidos

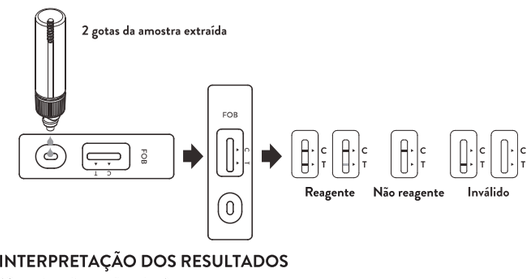
- Recipiente de coleta de amostras
- Cronômetro

INSTRUÇÕES DE USO

Permita que o tubo de coleta de amostra, a amostra e/ou os controles equilibrem-se à temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes do teste.

1. Para coletar amostras fecais:
   Colete as fezes em um recipiente de coleta de amostras limpo e seco. Melhores resultados serão obtidos se o ensaio for realizado no intervalo de 2 horas após a coleta. É possível armazenar a amostra coletada por 1 dia entre 2 °C e 8 °C, caso ela não seja testada dentro de 2 horas.
   ***OBSERVAÇÃO:** Considerando que existem substâncias e/ou microrganismos inesperados nas fezes que podem afetar a estabilidade da hemoglobina, é melhor testar as fezes assim que possível.
2. Para processar amostras fecais:
   Desenrosque toda a tampa do tubo de coleta de amostras e afixe **aleatoriamente o bastão aplicador de coleta de amostras na amostra fecal em pelo menos 3 locais diferentes.** Não escave a amostra fecal.
   Rosqueie e aperte a tampa no tubo de coleta de amostras e, em seguida, **agite o tubo de coleta de amostras vigorosamente** para misturar a amostra e o tampão de extração. As amostras preparadas no tubo de coleta de amostra podem ser armazenadas por três dias à temperatura ambiente (15 a 30 °C) se não forem testadas no prazo de 1 hora após o preparo.
3. Remova o dispositivo do teste da embalagem lacrada e use-o assim que possível. Não toque na membrana da tira.
4. Segure o tubo de coleta de amostra na posição vertical e, em seguida, desrosqueie para abrir a tampa superior. Vire o tubo de coleta de amostras e **transfira 2 gotas completas da amostra extraída** (aproximadamente 90 µL) para o poço de amostras do dispositivo de teste e inicie o cronômetro. Evite prender bolhas de ar no poço de amostra. Veja a ilustração abaixo.
5. Espere a(s) linha(s) colorida(s) aparecer(em). **Leia os resultados em 5 minutos.** Não interprete o resultado depois de 10 minutos.





INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

(Consulte a ilustração acima)

REAGENTE:* Duas linhas coloridas distintas aparecem. Uma linha deve estar na região da linha de controle (C) e a outra linha deve estar na região da linha de teste (T).

***OBSERVAÇÃO:** A intensidade da cor na região da linha de teste (T) variará conforme a concentração de sangue fecal oculto na amostra. Portanto, qualquer sombra na região de teste indica resultado positivo.

NÃO REAGENTE: Uma linha colorida aparece na região da linha de controle (C). Nenhuma linha colorida aparente aparece na região de teste (T).

INVÁLIDO: Nenhuma linha aparece na região da linha de controle (C). Se isso ocorrer, leia as instruções novamente e repita a análise com um novo teste. Se o resultado ainda for inválido, pare de usar o kit de teste imediatamente e entre em contato com seu distribuidor local.

CONTROLE DE QUALIDADE

Um controle de procedimento está incluído no teste. O aparecimento de uma linha colorida na região da linha de controle (C) é considerado um controle de procedimento interno.
Os padrões de controle não são fornecidos com este kit; no entanto, recomenda-se que controles positivo e negativo sejam testados como uma boa prática de laboratório para confirmar o procedimento do teste e para verificar o bom desempenho do teste.

LIMITAÇÕES

1. O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) é para uso diagnóstico *in vitro* apenas.
2. O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) indicará apenas a presença de sangue fecal oculto, a presença de sangue nas fezes não indica necessariamente sangramento colorretal.
3. Devido à caraterística de alto desempenho, o FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) pode obter resultados positivos quando a amostra está abaixo de 50 ng/mL em tampão de extração ou 6 µg/g nas fezes.
4. Assim como em todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser considerados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis para o médico.
5. Outros testes clinicamente disponíveis são necessários se forem obtidos resultados questionáveis.

VALORES ESPERADOS

O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) foi comparado com outro teste rápido comercial líder. A correlação entre esses dois sistemas é de 97,95% (95%CI: 96,92% a 98,71%).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão

O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) foi comparado com outro teste rápido comercial líder usando amostras clínicas.

Método		Outro teste rápido		Resultados totais
FOB One Step Test Device	Resultados	Reagente	Não reagente	
	Reagente	206	8	214
	Não reagente	14	847	861
Resultados totais		220	855	1075

Sensibilidade relativa: 93,6% (89,6% a 96,5%)* Especificidade relativa: 99,1% (98,2% a 99,6%)*
Exatidão relativa: 97,95% (96,92% a 98,71%)* * Intervalos de confiança de 95%

Sensibilidade

O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) pode detectar níveis de sangue fecal oculto tão baixos quanto 50 ng/mL ou 6 µg/g de fezes.

Especificidade

Reatividade cruzada

O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) é específico para hemoglobina humana. As amostras contendo as seguintes substâncias foram diluídas no tampão de extração até uma concentração de 1,0 mg/mL e testadas nos controles positivos e negativos sem efeito nos resultados do teste: Hemoglobina bovina, hemoglobina de frango, hemoglobina de porco, hemoglobina de cabra, hemoglobina de cavalo, hemoglobina de coelho e hemoglobina de peru.

Substância que causa interferências

O FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) foi testado para amostras contendo até 20 mg/dl de ácido ascórbico, 60 mg/dl de ácido oxálico, 100 mg/dl de bilirrubina, 60 mg/dl de ácido úrico, 20 mg/dl de aspirina, 2.000 mg/dl de ureia, 2.000 mg/dl de glicose e 40 mg/dl de cafeína, e todos os resultados foram considerados negativos.

Precisão

Intra-ensaio

A precisão dentro da execução foi determinada pela utilização de 10 réplicas de três amostras: uma negativa, uma positiva com título baixo e uma positiva com título alto. Os valores negativos, positivos com título baixo e positivos com título alto foram identificados corretamente em mais de 99% das vezes.

Inter-ensaio

A precisão entre as execuções foi determinada por 10 ensaios independentes nas mesmas três amostras: Os valores negativos, positivos com título baixo e positivos com título alto. Três lotes diferentes do FOB One Step Fecal Occult Blood Test Device (Feces) foram testados usando amostras negativas, positivas com título baixo e positivas com título alto. As amostras foram identificadas corretamente em mais de 99% das vezes.

BIBLIOGRAPHY/ BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA

1. Simon J.B. *Occult Blood Screening for Colorectal Carcinoma: A Critical Review*, Gastroenterology, Vol. 1985; 88: 820.
2. Blebea J. and Ncpherson RA. *False-Positive Guaiac Testing With Iodine*, Arch Pathol Lab Med, 1985;109:437-40.

Index of Symbols/ Índice de Símbolos/ Liste des Symboles / Índice de símbolos

Consult instructions for use Consulte las instrucciones de uso Consulter la notice d'utilisation Consulte as instruções de uso	Batch code Número de lote Code de lot Código do lote
Catalogue number Número de catálogo Référence catalogue Número de catálogo	Manufacturer Fabricante Fabricant Fabricante
Use-by date Fecha de caducidad Date d'expiration Usar até	Do not reuse No reutilizar Usage unique Não reutilizar
Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para realizar <n> pruebas Contenu suffisant pour <n> tests Contém o suficiente para <n> testes	Store between 2-30°C Almacenar entre 2-30°C Conserver entre 2-30°C Armazene entre 2 °C e 30 °C
In vitro diagnostic medical device Dispositivo médico para diagnóstico *In vitro* Dispositif médical de diagnostic *in vitro* Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*	
Authorized representative in the European Community Representante autorizado en la Comunidad Europea Représentant autorisé dans la communauté européenne Representante autorizado na comunidade europeia	

Abon Biopharm (Hangzhou) Co., Ltd.
#198 12th Street East,
Hangzhou Economic & Technological
Development Area,
Hangzhou, 310018, P.R.China
www.globalpointofcare.abbott

EC REP
MT Promedt Consulting GmbH
Ernst-Heckel-Straße 7
66386 St. Ingbert
Germany

© 2023 Abbott. All rights reserved. All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

DETERMINE™ HIV EARLY DETECT

Abbott

REF 7D2842, 7D2843

January 2020
241851/R9

Key to symbols used/
Clave de los símbolos utilizados/
Légende des symboles utilisés/
Designação dos símbolos utilizados



Store at 2-30°C/
Guardar a temperaturas entre 2 y 30°C/
Conserver entre 2-30°C/
Armazenar a 2-30°C

REF Catalogue Number/
Número de catálogo/
Référence catalogue/
N° de Catálogo

Do not reuse/
No reutilizar/
Ne pas réutiliser/
Não reutilizar

IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device/
Dispositivo de diagnóstico médico *in vitro*/
Dispositif médical de diagnostic *In Vitro*/
Dispositivo Médico para Diagnóstico *In Vitro*

Do not use if package is damaged/
No utilizar si el envase está roto/
Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé/
Não utilizar caso a embalagem esteja danificada

Keep away from sunlight/
No exponer a la luz solar/
Conserver à l'abri de la lumière du soleil/
Manter afastado da luz solar

Σ 20 Contains Sufficient for 20 tests/
Contiene material suficiente para realizar 20 pruebas/
Permet de réaliser 20 tests/
Contém o suficiente para 20 testes

Σ 100 Contains Sufficient for 100 tests/
Contiene material suficiente para realizar 100 pruebas/
Permet de réaliser 100 tests/
Contém o suficiente para 100 testes

Consult instructions for use/
Consulte las instrucciones de uso/
Veuillez consulter le mode d'emploi/
Consulte as instruções de utilização

Advice Line

For further information, please contact your distributor, or call to one of the following Abbott Product Support Care Centers:

Region	Phone	E-Mail Address
Europe & Middle East	+ (44) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Asia Pacific	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
Africa, Russia & CIS	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
Latin America	+ (57) 2 661 8797	LAproductsupport@abbott.com

Línea de consulta

Para mayor información, por favor contacte a su distribuidor, o llame a uno de los siguientes Centros de Soporte al Producto de Abbott:

Región	Teléfono	Dirección de correo electrónico
Europa & Medio Oriente	+ (44) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Asia Pacífica	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
Africa, Rusia, & CEI	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
América Latina	+ (57) 2 661 8797	LAproductsupport@abbott.com

Ligne consacrée aux conseils

Pour de plus amples renseignements, s'il vous plaît contactez votre distributeur ou appelez l'un des centres de produits de support Abbott :

Region	Phone	E-Mail Address
Europe et Moyen-Orient	+ (44) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Asie Pacifique	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
Afrique, Russie & CEI	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
Amerique Latine	+ (57) 2 661 8797	LAproductsupport@abbott.com

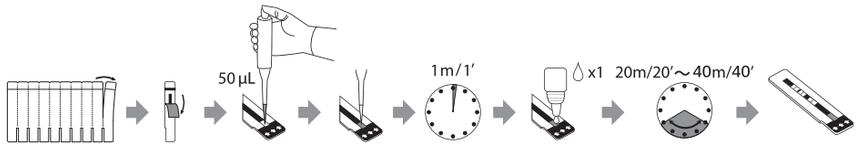
Linha de Aconselhamento

Para mais informações, por favor contacte o seu distribuidor, ou ligue para um dos seguintes Centros de Suporte ao Produto Abbott:

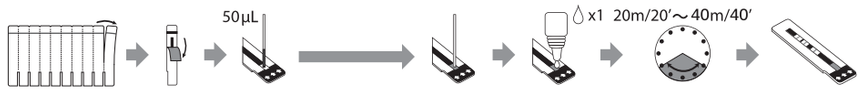
Região	Telefone	Direção do e-mail
Europa e Oriente Médio	+ (44) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Ásia-Pacífico	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
África, Rússia e CEI	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
América Latina	+ (57) 2 661 8797	LAproductsupport@abbott.com

Whole Blood / Sangre Total / Sang Total / Sangue Total

Pipette
Pipeta
Pipette
Pipeta

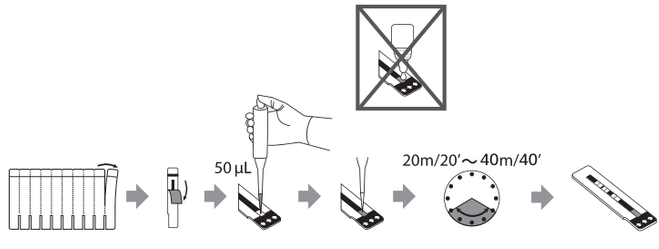


EDTA Capillary Tubes
Tubos capilares EDTA
Tubes capillaires avec EDTA
Tubos Capilares EDTA

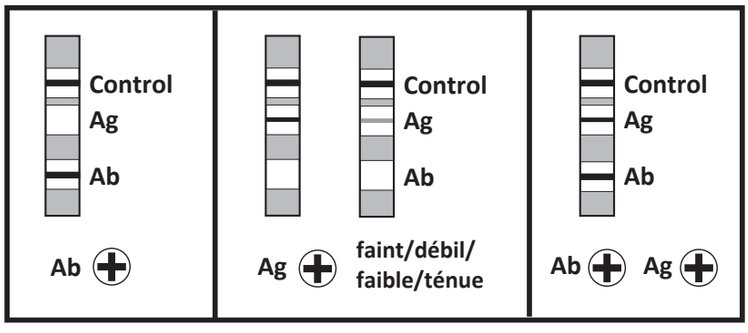


Serum, Plasma / Suero, Plasma / Sérum, Plasma / Soro, Plasma

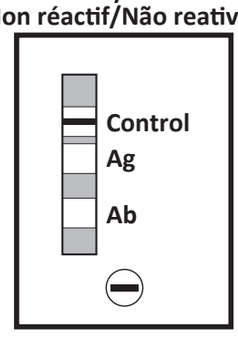
Pipette
Pipeta
Pipette
Pipeta



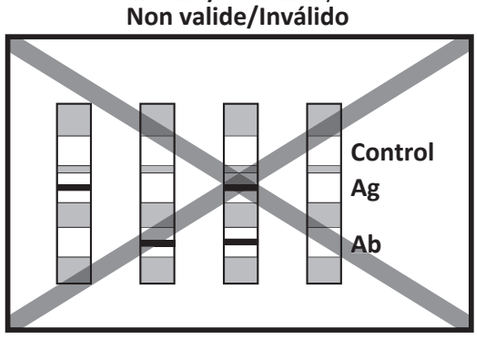
Reactive/Reactivo/Réactif/Reativo



Non-Reactive/No reactivo/ Non réactif/Não reativo



Invalid/No válido/ Non valide/Inválido



Abbott Diagnostics Medical Co., Ltd.
357 Matsuhidai,
Matsudo-shi,
Chiba, 270-2214 Japan
Tel +81 47 311 5750

EN

January 2020
241851/R9

This package insert must be read carefully prior to use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are deviations from the instructions in this package insert.

NAME AND INTENDED USE

Determine™ HIV Early Detect is an *in vitro,* visually read, qualitative immunoassay for the detection of antibodies (Ab) to HIV-1 and HIV-2 and the detection of non-immunocomplexed (free) HIV-1 p24 antigen (Ag) in human capillary and venous whole blood, plasma or serum. Therefore, any reactivity on 1) the Ab bar alone 2) the Ag bar alone or 3) both the Ab and Ag bars simultaneously, is considered a reactive result suggestive of infection with HIV. The test is for professional use only and intended to be used as an aid in the diagnosis of HIV-1/HIV-2 infection in adults and children over the age of 18 months.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) is characterized by changes in the population of T-cell lymphocytes. In an infected individual, the virus causes depletion of CD4 helper T-cells, which leaves the person susceptible to opportunistic infections and some malignancies. The virus that causes AIDS exists as two related types known as HIV-1 and HIV-2. The multiplication of the HIV in the infected cells leads to cell rupture and thus the release of HIV virus particles, which are first detected in the form of HIV RNA and next in the form of HIV antigen.[1,2] This is followed by production of specific antibodies to either HIV-1 or HIV-2.[3,4,5] HIV antigen may become undetectable at this time because of the formation of antibody-antigen complexes.

BIOLOGICAL PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Determine HIV Early Detect is an immunochromatographic test for the qualitative detection of free HIV-1 p24 antigen and antibodies to HIV-1 and HIV-2.
Specimen is added to the sample pad. The specimen mixes with biotinylated anti-p24 antibodies and selenium colloid-conjugates coated with recombinant HIV-1, HIV-2 and HIV-1 group O antigens, synthetic HIV-2 peptide and anti p24 mouse monoclonal antibody. This mixture continues to migrate through the solid phase to the immobilized recombinant HIV-1/HIV-1 group O antigens and synthetic HIV-1/HIV-2 peptides at the Antibody (Ab) window, immobilized avidin at the Antigen (Ag) window.
If antibodies to HIV-1 and/or HIV-2 are present in the specimen, the antibodies bind to the selenium colloid-conjugates coated with recombinant HIV-1, HIV-2 and HIV-1 group O antigens and synthetic HIV-2 peptide and to the immobilized recombinant HIV-1/HIV-1 group O antigens and synthetic HIV-1/HIV-2 peptides, forming one red bar at the Ab window site. If antibodies to HIV-1 and HIV-2 are absent, the selenium colloid-conjugates flow past the Ab window and no red bar is formed at the Ab window site.
If free HIV-1 p24 antigen is present in the specimen, the antigen binds to the biotinylated anti-p24 antibodies and the selenium colloid-conjugate coated with anti p24 mouse monoclonal antibody. This complex binds to the immobilized avidin forming a red bar at the Ag window site. If HIV-1 p24 antigen is not present, both the biotinylated anti-p24 antibodies and selenium colloid-conjugate flow past the Ag window and no red bar is formed at the Ag window site.
To ensure assay validity, a procedural control bar is incorporated in the assay device at the Control window.

CONTENTS

Determine HIV Early Detect 20 Test (7D2842) or 100 Test (7D2843)

- **Determine** HIV Early Detect Test Card, 2 or 10 cards (containing 10 tests/card) coated with HIV-1/2 recombinant antigen, synthetic peptides, anti-p24 antibodies and avidin.

Accessories (required but not provided)

For testing Whole Blood samples

- Chase Buffer (7D2243) 1 Bottle (2.5 mL) prepared in phosphate buffer. Preservatives: Antimicrobial Agents.

For testing Whole Blood samples (fingerstick assay)

- EDTA Capillary Tubes (7D2222)

Determine HIV Early Detect SET (7D2843SET) (100 Test for testing whole blood samples)

- **Determine** HIV Early Detect (7D2843)
- Chase Buffer (7D2243)
- EDTA Capillary Tubes (7D2222)
- Blood Lancet (7D2232 or 7D2233)

Materials Required But Not Provided

- Disposable gloves, timing device
- Micropipette capable of delivering 50 µL (other than fingerstick)
- Alcohol swab, gauze pad, lancet (for fingerstick)

WARNINGS AND PRECAUTIONS

For *In Vitro* Diagnostic Use.
For professional use only.
Safety data sheet available for professional user on request.

CAUTION: When handling specimens and reagents, use appropriate biosafety practices[7,8]. These precautions include, but are not limited to the following:

- Wear gloves.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics, or handle contact lenses in areas where these materials are handled.
- Clean and disinfect all spills of specimens or reagents using suitable disinfectant, such as 0.5% sodium hypochlorite, or other suitable disinfectant.[7,8]
- Decontaminate and dispose of all specimens, used test strips, and other potentially contaminated materials in accordance with local regulations.[7,8]

STORAGE

Store **Determine** HIV Early Detect Test Cards and Chase Buffer at 2-30°C until expiration date.

- When handled and stored as directed, kit components are stable until the expiration date. Do not use kit components beyond expiration date.
- Immediately reseal all unused tests in the foil pouch containing the desiccant by pressing seal from end to end to close.
- Do not use devices that have become wet or if the packaging has become damaged.

SPECIMEN COLLECTION

Serum, Plasma, and Whole Blood Collection by Venipuncture.

Use EDTA collection tubes for whole blood and plasma specimens.

- Collect human serum, plasma and whole blood by venipuncture aseptically.
- To obtain serum, separate from the clot. To obtain plasma, separate from the packed cells. Separate specimens as soon as possible to avoid any hemolysis.

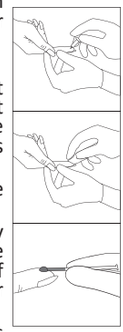
Whole Blood Collection by Fingerstick[6] (See Fig.1)

Use EDTA Capillary Tubes (7D2222).

CAUTION: Glass capillaries may be damaged during transportation or when in use. Handle with care in order to avoid injury when removing from the package as well as during use and during disposal.
Before collecting a fingerstick specimen, place a capillary tube on a clean dry surface.

1. Choose the fingertip of the middle, ring, or index finger (whichever is the least callused). Warm the hand as needed with a warm, moist towel or warm water to increase blood flow.
2. Clean fingertip with alcohol; allow to air dry.
3. Position the hand palm-side up. Place the lancet off-center on the fingertip. Firmly press the lancet against the finger and puncture the skin. Dispose of the lancet in an appropriate biohazard sharps container.
4. Wipe away the first drop of blood with a sterile gauze pad.
5. Hold the finger lower than the elbow and apply gentle, intermittent pressure to the base of the punctured finger several times. Touch the tip of the capillary tube to the drop of blood. Avoid air bubbles.
   Fill the tube with blood between the 2 lines marked on the capillary tube (50 µL).

Fig.1



SPECIMEN STORAGE

- Store serum and plasma specimens at 2-8°C and run the test within 7 days of collection. If testing is delayed more than 7 days, freeze the specimen at -20°C or colder.
- Avoid repeated freeze/thaw cycles.
- If serum or plasma specimens show particulate matter or turbidity, centrifuge at 10,000g for 5 minutes at room temperature before sampling. Carefully remove the 50 µL test sample from the supernatant. If a lipid layer is formed on the surface of the liquid, ensure to take the sample from the clear liquid below that layer.
- For whole blood collected by venipuncture, store at 2-8°C. Do not freeze whole blood specimens. Run the test within 7 days of collection.
- For whole blood collected by fingerstick, test immediately.

TEST PROCEDURE

Remove the desired number of test strips from the 10-test card by bending and tearing at the perforation.
The test is to be performed at 15-30°C.

NOTE:

- To preserve the lot number which appears on the left side of the test card, remove individual test strips starting from the right side of the test card. The lot number and expiry date are not printed on the individual test strips.
- After removing the protective foil cover from each test strip, start the assay immediately. At under 80% or less relative humidity, the test can be used within 30 minutes after removing the protective foil cover.
- For serum or plasma, ensure thorough mixing of sample prior to use. For whole blood sample, mix well by gentle inversion of the tube immediately before testing.
- Running the test in high temperature/low humidity may affect the appearance of the Ag or Ab bar. If the test strip is partially dried and difficult to read at 20 to 40 minutes, the test should be repeated using a new test strip and result read at 20 minutes. When the test strip is partially dried, it appears as mixed white spot and grayish area.
- If serum or plasma sample does not flow or shows abnormal flow, such as stopping in the middle of the window, centrifuge the specimen and repeat the test with a new test strip.

CAUTION: Abnormal flow may occur with a whole blood (fingerstick) sample, if the capillary tube is not placed in the middle of the sample pad at an upright (vertical) position. If this occurs, collect a new sample and repeat the test using a new strip.

1. Remove the protective foil cover from each test.
2. For serum or plasma samples:
   a. Apply 50 µL of sample (precision pipette) to the sample pad (marked by the arrow symbol).
   b. Wait a minimum of 20 minutes from addition of the sample (up to 40 minutes maximum) and read result.
3. For whole blood (venipuncture) samples:
   a. Apply 50 µL of sample (precision pipette) to the sample pad (marked by the arrow symbol).
   b. Wait one minute to allow the sample to be absorbed, then apply one drop of Chase Buffer to the sample pad, holding the bottle vertically.
   c. Wait a minimum of 20 minutes from addition of the sample (up to 40 minutes maximum) and read result.
4. For whole blood (fingerstick) samples using an EDTA Capillary Tube:
   a. Place the capillary tube containing the blood sample onto the middle of the sample pad (marked by the arrow symbol) at an upright (vertical) position.
   b. Wait until all the blood is transferred from the capillary tube to the sample pad. Then immediately apply one drop of Chase Buffer to the sample pad, holding the bottle vertically.
   Caution: do not lift the capillary tube from the sample pad before all the blood has been transferred – a bubble may form which will prevent the complete transfer of sample and invalidate the test. It may take more than one minute for full transfer of the sample.
   c. Wait a minimum of 20 minutes from addition of the sample (up to 40 minutes maximum) and read result.

QUALITY CONTROL

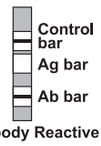
To ensure assay validity, a procedural control is incorporated in the device and is labeled "C". If the control bar does not appear by assay completion, the test result is invalid. Repeat the test using a new test strip.

INTERPRETATION OF RESULTS (See pictures)

NOTES:

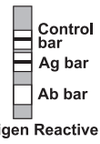
- Any reactivity on 1) the Ab bar alone 2) the Ag bar alone or 3) both, the Ab and Ag bars simultaneously, is considered a reactive result suggestive of infection with HIV.
- Interpret any visible red bar (even very faint) in the control window as a valid result.
- The test result is reactive even if the AG or AB bars appear lighter or darker than the control bar. Any visible red bar, no matter how faint, is interpreted as reactive.
- A test which gives very high background should be considered invalid.
- If an invalid result occurs repeatedly, or for technical assistance, contact your local distributor or call Technical Support.

ANTIBODY REACTIVE
(Two Bars - Control and AB Bars)
Red bars appear in both the control window (labeled "C") and in the Ab window (labeled "AB") of the strip. Interpret any visible red bar, no matter how faint, in the Ab window as reactive.



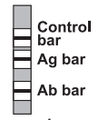
Antibody Reactive

ANTIGEN (p24) REACTIVE (Two Bars - Control and AG Bars)
Red bars appear in both the control window (labeled "C") and in the Ag window (labeled "AG") of the strip. Interpret any visible red bar, no matter how faint, in the Ag window as reactive. The presence of only an antigen response suggests that the infection is at an early stage. Follow up testing may be suggested in order to track the expected future detection of antibodies.



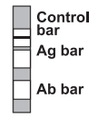
Antigen Reactive

ANTIBODY REACTIVE AND ANTIGEN (p24) REACTIVE (Three Bars - Control, AB and AG Bars)
Red bars appear in the control window (labeled "C"), the Ab window (labeled "AB") and the Ag window (labeled "AG") of the strip. Interpret any visible red bar in the Ab and Ag windows as reactive.



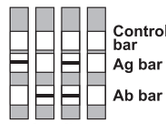
Antigen and Antibody Reactive

NON-REACTIVE (One Bar - Control Bar)
One red bar appears in the control window of the strip (labeled "C"), and no red bar appears in the Ab and Ag windows of the strip (labeled "AG" and "AB").



Non-Reactive

INVALID (No Control Bar)
If there is no red bar in the control window of the strip, and even if a red bar appears in the Ab or Ag window of the strip, the result is invalid. Repeat the test using a new test strip.



Invalid

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- **Determine** HIV Early Detect is designed to detect antibodies (Ab) to HIV-1 and/or HIV-2 and non-immunocomplexed (free) HIV-1 p24 antigen (Ag), in human serum, plasma and capillary and venous whole blood specimens. Other body fluids or pooled specimens may not give accurate results and should not be used.
- The intensity of the AB and AG bars does not necessarily correlate to the titer of antibody and antigen in the specimen, respectively.
- A reactive result for antibodies to HIV-1/2 combined with a non-reactive result for HIV-1 p24 antigen does not preclude the possibility of acute HIV infection.
- Reactivity for both antibody and antigen lines or for antigen reactivity only may be confirmed by 4th generation EIA or NAT where the IVD is indicated as an aid for diagnosis. Antibody reactivity only can also be confirmed by using another HIV Ab RDT. If non-reactive in subsequent testing, retest at least 14 days after the original test is recommended. Follow the local guideline for confirmatory methods if applicable.
- No test provides absolute assurance that a specimen does not contain low levels of HIV-1 p24 antigen and/or antibodies to HIV-1 and HIV-2 such as those present at a very early stage or late stage of HIV infection.
- A non-reactive result for both antibodies to HIV-1/2 and HIV-1 p24 antigen does not preclude the possibility of exposure to or infection with HIV-1 or HIV-2 viruses.
- The absence of AG bar may occur when all p24 antigen is bound by antibodies. When high levels of antibodies against the p24 antigen are present in the blood after seroconversion, the antibodies tend to bind to the antigens, forming immunocomplexes. **Determine** HIV Early Detect detects only non-immunocomplexed (free) antigens; it does not detect immunocomplexed (bound) antigens.
- Some known HIV-infected persons taking antiretroviral medication have been shown to produce false negative results when tested by rapid diagnostic tests.[10,11,12]
- Where clinical presentation is inconsistent with the non-reactive **Determine** HIV Early Detect test result, the individual should be re-tested for antibodies to HIV with **Determine** HIV Early Detect at least 14 days after the original test, or with a NAT assay that is indicated for diagnosis.
- Whole blood or plasma specimens containing anticoagulants other than EDTA have not been validated for use with the **Determine** HIV Early Detect and may give incorrect results.
- Infants born to HIV-infected mothers may carry maternal antibodies and will test antibody positive until eighteen months of age, which may not necessarily indicate the true infection status of the new born. The use of HIV- 1 p24 antigen testing to exclude infection in neonates (up to around eighteen months) is not recommended by CDC, because of poor sensitivity, especially in the presence of HIV antibody. Definitive diagnosis of HIV infection in early infancy requires other assays, including HIV nucleic acid test or viral culture.[9]
- Biotin treatment higher than 20mg per day may lead to decreased Ag bar intensity. Biotin concentrations up to 200 ng/mL in serum or plasma did not impact the sensitivity. There is no impact to Ab bar by biotin.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS
SENSITIVITY
Sensitivity was evaluated by testing confirmed HIV antibody positive specimens, commercial seroconversion panels and HIV-1 subtype virus panels.

1. HIV Antibody Positive Specimens:

Table I
HIV Antibody Positive Specimens

Types	Number of Specimens Tested	Reactive by **Determine** HIV Early Detect	Sensitivity
HIV-1	422	422	100.0%
HIV-1 non B subtypes *	56	56	100.0%
HIV-1 group O	4	4	100.0%
HIV-2	100	100	100.0%
HIV**	100	100	100.0%
Total	**682**	**682**	**100.0%**

* Subtypes: A, C, D, F, G, H, J, K, and CRF01-AE, CRF02-AG, CRF03-AB, CRF05-DF, CRF09-A/U, CRF11-cpx
** Specimens collected in Europe

A total of 682 confirmed HIV positive specimens were tested (Table I). The antibody diagnostic sensitivity of **Determine** HIV Early Detect on this population of specimens was calculated to be 100%.

2. HIV Seroconversion Panels: (See Table II on the last page.)
The sensitivity of the **Determine** HIV Early Detect was evaluated using 31 sets of seroconversion panels; each including early seroconversion panel members (98 early samples in total). The results were compared with the results of commercially available CE marked HIV 4th generation rapid immunochromatographic test kit, CE marked HIV 3rd generation rapid immunochromatographic test kit, HIV antibody EIA kit, HIV antigen EIA kit. Additionally, the results of 20 seroconversion panels were compared with the data of CE marked HIV 4th generation kit (Chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA)).
On 28 of 31 panels, **Determine** HIV Early Detect detected HIV infection earlier than a 3rd generation rapid immunochromatographic test kit. On 11 of 31 panels, **Determine** HIV Early Detect detected HIV infection earlier than a rapid 4th generation immunochromatographic test kit.
Detection of six of 20 panels by **Determine** HIV Early Detect was delayed by 1 bleed date when compared to a 4th generation kit (CMIA).
Detection of eight of 31 panels by **Determine** HIV Early Detect was delayed by 1 bleed date when compared to HIV Antigen Kit (EIA).

3. HIV-1 p24 Subtype Antigens:
50 HIV virus panels were prepared by diluting 50 different cultured HIV isolates including HIV-1 group M subtypes: A(4), B(8), C(7), D(5), F(5), G(2), H(1), and CRF01-AE(10), CRF02-AG(2), HIV-1 group O(4) and HIV-2(2) with HIV negative human serum. The **Determine** HIV Early Detect detected all HIV-1 panels and did not detect HIV-2 panels.

4. Analytical Sensitivity of HIV-1 p24 antigen
The analytical sensitivity of the **Determine** HIV Early Detect was evaluated by testing WHO International Standard HIV-1 p24 Antigen (NIBSC code 90/636). The results demonstrated that the test could detect a concentration of 2 IU/mL HIV-1 p24 antigen.

SPECIFICITY
A total of 2469 confirmed negative serum or plasma specimens were tested with the **Determine** HIV Early Detect and the specificity was **Determine**d for the antibody (Ab) bar and for the antigen (Ag) bar (Table III). The specificity was 99.96% for the antibody (Ab) bar and 99.76% for the antigen (Ag) bar.

Table III
Specificity of Determine HIV Early Detect

Population	Number of Tested Specimens	**Determine** HIV Early Detect					
		Ab bar		Ag bar		Combined Ab and Ag bar	
		Reactive	Non-reactive	Reactive	Non-reactive	Reactive	Non-reactive
Seronegative specimens*	1749	0	1749	2	1747	2	1747
Hospitalized specimens	218	1	217	2	216	3	215
Pregnant women	206	0	206	0	206	0	206
potentially cross-reacting specimens**	296	0	296	2	294	2	294
Total	2469	1	2468	6	2463	7	2462
Specificity (%)		99.96%		99.76%		99.72%	

* Including specimens collected in Europe (300), USA (1299) and Africa (150)
** Disease states other than HIV, and potentially interfering substances: Rheumatoid factor, antinuclear antibody, systemic lupus erythematosus, high cholesterol, high total protein, high IgM, human anti mouse IgG, other infections (HBV, HCV, HTLV I or II, CMV, Toxo IgG, Syphilis, HSV 1/2 and EBV), Flu vaccinated patients, and dialysis patient specimens

SAMPLE TYPE

Table IV
Antibody sensitivity in matched whole blood (venipuncture and fingerstick), serum and plasma specimens

No. of matched specimens tested	Type of Specimens and No. of Reactive by **Determine** HIV Early Detect (Ab detection)				Correlation between matrices
	Serum	Plasma	Whole Blood venipuncture	Whole Blood fingerstick*	
25	25	25	25	NT	100.0%
25	25	25	25	25	100.0%

NT: not tested *EDTA capillary tubes

Multiple (matched) specimens: Seropositive specimens from a total of 50 individuals from Africa were tested with the **Determine** HIV Early Detect (Table IV). Multiple (matched) specimens, 50 serum specimens, 50 plasma specimens, 50 whole blood (venipuncture) specimens and 25 whole blood (fingerstick) specimens were obtained from the donors in Africa. The results obtained from all specimen matrices showed 100% correlation, demonstrating that **Determine** HIV Early Detect gives identical results for these types of specimen matrices.

Table V
Specificity in matched whole blood (venipuncture and fingerstick), serum and plasma specimens

No. of matched specimens tested	Type of Specimens and No. of Non-reactive by **Determine** HIV Early Detect				Correlation between matrices
	Serum	Plasma	Whole Blood venipuncture	Whole Blood fingerstick*	
25	25	25	25	NT	100.0%
25	25	25	25	25	100.0%

NT: not tested *EDTA capillary tubes

Multiple (matched) specimens: Seronegative specimens from a total of 50 individuals from Africa were tested with the **Determine** HIV Early Detect (Table V). Multiple (matched) specimens, 50 serum specimens, 50 plasma specimens, 50 whole blood (venipuncture) specimens and 25 whole blood (fingerstick) specimens were obtained from the donors in Africa. The results obtained from all specimen matrices showed 100% correlation, demonstrating that **Determine** HIV Early Detect gives identical results for these types of specimen matrices.

ES

Estas instrucciones de uso deben leerse atentamente antes de realizar pruebas. Las instrucciones se deben seguir en consecuencia. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si existen desviaciones con respecto a estas instrucciones de uso.

NOMBRE Y FINALIDAD PREVISTA

Determine™ HIV Early Detect es un inmunoanálisis cualitativo in vitro con lectura visual para la detección de anticuerpos (Ab) a VIH-1 y VIH-2 y la detección del antígeno (Ag) no inmunocomplejo p24 del VIH-1 (en forma libre) en sangre total humana capilar y venosa, plasma o suero. Por tanto, toda reactividad en 1) la barra Ab solamente; 2) la barra Ag solamente; o 3) tanto la barra Ab como la Ag de forma simultánea, se considera un resultado reactivo que apunta a una infección por VIH. La prueba es para uso profesional solamente, y está indicada para utilizarla de forma complementaria en el diagnóstico de infección por VIH-1/VIH-2 en adultos y niños de más de 18 meses.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El SIDA (Síndrome de inmunodeficiencia adquirida) se caracteriza por alteraciones en la población de linfocitos T. En un individuo infectado, el virus provoca el agotamiento de las células T colaboradoras CD4, lo que deja a la persona expuesta a infecciones oportunistas y a algunos tumores. El virus que provoca el SIDA existe como dos tipos relacionados denominados VIH-1 y VIH-2. La multiplicación del VIH en las células infectadas provoca la ruptura de las células y, por lo tanto, la liberación de las partículas del virus VIH, que se detectan primero en forma de ARN del VIH y después en forma de antígeno del VIH.[1,2] A esto le sigue la producción de anticuerpos específicos al VIH-1 o VIH-2.[3,4,5] El antígeno del VIH puede ser indetectable en este momento, debido a la formación de complejos antígeno-anticuerpo.

FUNDAMENTOS DEL PROCEDIMIENTO

Determine HIV Early Detect es una prueba inmunocromatográfica para la detección cualitativa del antígeno p24 del VIH-1 en forma libre y anticuerpos a VIH-1 y VIH-2.

El espécimen se añade a la almohadilla para la muestra. El espécimen se mezcla con anticuerpos anti-p24 biotinilados y conjugados de coloide de selenio recubiertos con antígenos del grupo O del VIH-1, del VIH-2 y del VIH-1 recombinante, un péptido del VIH-2 sintético y un anticuerpo monoclonal de ratón anti-p24. Esta mezcla continúa migrando por la fase sólida hasta los antígenos del grupo O del VIH-1/VIH-1 recombinante y los péptidos del VIH-1/VIH-2 sintéticos inmovilizados en la ventana del anticuerpo (Ab) y la avidina inmovilizada en la ventana del antígeno (Ag).

Si hay anticuerpos al VIH-1 y/o al VIH-2 en el espécimen, se unen a los conjugados de coloide de selenio recubiertos con antígenos del grupo O del VIH-1, del VIH-2 y del VIH-1 recombinante y un péptido del VIH-2 sintético y a los antígenos del grupo O del VIH-1/VIH-1 recombinante y los péptidos del VIH-1/VIH-2 sintéticos inmovilizados, con lo que se forma una barra roja en el sitio de la ventana Ab. Si no hay anticuerpos al VIH-1 y/o al VIH-2, los conjugados de coloide de selenio pasan por la ventana Ab y no se forma ninguna barra roja en el sitio de la ventana Ab.

Si el antígeno p24 del VIH-1 en forma libre está presente en el espécimen, se une a los anticuerpos anti-p24 biotinilados y al conjugado de coloide de selenio recubierto con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-24. Este complejo se une a una avidina inmovilizada, con lo que se forma una barra roja en el sitio de la ventana Ag. Si el antígeno p24 del VIH-1 no está presente, tanto los anticuerpos anti-p24 biotinilados como el conjugado de coloide de selenio pasan por el sitio de la ventana Ag y no se forma ninguna barra roja en el sitio de la ventana Ag.

Para garantizar la validez del ensayo, se incorpora una barra de control del procedimiento al dispositivo para el ensayo en la ventana de control.

CONTENIDO

<u>**Determine** HIV Early Detect 20 pruebas (7D2842) o para 100 pruebas (7D2843)</u>

- Tarjeta de prueba **Determine** HIV Early Detect, para 2 o 10 tarjetas (con 10 pruebas/tarjeta) recubiertas con antígeno del VIH-1/2 recombinante, péptidos sintéticos, anticuerpos anti-p24 y avidina.

Accesorios (necesarios pero no incluidos)

Para realizar pruebas en muestras de sangre total

- 1 botella (2,5 mL) de buffer de detección (7D2243) preparado en buffer fosfato. Conservantes: agentes antimicrobianos.

Para realizar pruebas en muestras de sangre total (ensayo por punción digital)

- Tubos capilares EDTA (7D2222)

<u>**Determine** HIV Early Detect SET (7D2843SET)(100 pruebas para realizar pruebas en muestras de sangre total)</u>

- **Determine** HIV Early Detect (7D2843)
- Buffer de detección (7D2243)
- Tubos capilares EDTA (7D2222)
- Lanceta para extracción de sangre (7D2232 o 7D2233)

Materiales necesarios pero no incluidos

- Guantes desechables, cronómetro
- Micropipeta con capacidad de 50 µL (si no es punción digital)
- Tampón impregnado en alcohol, gasa, lanceta (para punción digital)

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Solo para su uso en diagnóstico *in vitro*.

Solo para uso profesional.

Hoja de datos de seguridad disponible para usuarios profesionales previa solicitud.

PRECAUCIÓN: Se deben seguir las prácticas[7,8] de seguridad biotecnológica adecuadas para la manipulación de especímenes y reactivos. Entre estas precauciones se incluyen entre otras:

- Lleve guantes.
- No pipetee ningún material con la boca.
- No coma, beba ni fume, ni se aplique cosméticos ni manipule lentillas en las zonas en las que se manipulan estos materiales.
- Limpie y desinfecte todas las salpicaduras de especímenes o reactivos con un desinfectante adecuado, como hipoclorito de sodio al 0,5% u otro desinfectante adecuado[7,8].
- Descontamine y elimine todos los especímenes, tiras de análisis usadas y otros materiales posiblemente contaminados de conformidad a las normas locales[7,8].

ALMACENAMIENTO

Guarde las tarjetas de prueba y el buffer de detección de **Determine** HIV Early Detect a temperaturas de entre 2 °C y 30 °C hasta la fecha de caducidad.

- Cuando se manipulan y guardan según las instrucciones, los componentes del kit se mantienen estables hasta la fecha de caducidad. No utilice los componentes del kit después de la fecha de caducidad.
- Vuelva a guardar inmediatamente las pruebas no utilizadas en la bolsa de aluminio que contiene el desecante presionando el cierre de un extremo a otro para cerrarla.
- No utilice dispositivos que se hayan mojado ni en caso de que el envoltorio se haya estropeado.

RECOGIDA DE ESPECÍMENES

Recogida de suero, plasma y sangre total por venopunción.

Utilice tubos de recogida EDTA en el caso de especímenes de sangre total y plasma.

- Recoja las muestras humanas de suero, plasma y sangre total por venopunción de manera aséptica.
- Para obtener suero, sepárelo del coágulo. Para obtener plasma, sepárelo de las células del paquete. Separe cuanto antes los especímenes para evitar que se produzca hemólisis.

Recogida de sangre total por punción digital[6] (consulte la fig. 1)

Tubos capilares EDTA (7D2222).

PRECAUCIÓN: Los capilares de vidrio pueden resultar dañados durante el transporte o cuando estén en uso. Manipúlelos con cuidado para evitar que se dañen al extraerlos del envase, así como durante el uso y la eliminación.

Antes de recoger un espécimen por punción digital, coloque un tubo capilar en una superficie seca y limpia.

1. Seleccione la punta del dedo medio, anular o índice (la que esté menos encallecida). Cuando sea necesario, caliente la mano con una toalla húmeda y tibia o agua tibia para aumentar el flujo sanguíneo.
2. Limpie la punta del dedo con alcohol; déjela secar al aire.
3. Coloque la mano con la palma hacia arriba.
   Coloque la lanceta en la punta del dedo, no en el centro. Oprima con firmeza la lanceta contra el dedo y puncione la piel. Elimine la lanceta en un recipiente adecuado para residuos de riesgo biológico con bordes afilados.
4. Seque la primera gota de sangre con una compresa de gasa estéril.
5. Sujete el dedo a menor altura que el codo y aplique varias veces una presión suave e intermitente en la base del dedo puncionado. Toque la punta del tubo capilar a la altura de la gota de sangre. Evite la formación de burbujas de aire.
   Llene el tubo de sangre hasta un nivel en medio de las dos líneas marcadas en el tubo capilar (50 µL).

Fig.1



ALMACENAMIENTO DE ESPECÍMENES

- Guarde los especímenes de suero y plasma a temperaturas de entre 2 °C y 8 °C y realice la prueba en los 7 días siguientes a la recogida. Si la prueba se retrasa más de 7 días, congele el espécimen a -20 °C o a temperaturas más frías.
- Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación.
- Si en los especímenes de plasma o suero se observan partículas en suspensión o turbidez, se deben centrifugar a 10.000 g durante 5 minutos a temperatura ambiente antes de tomar una muestra. Con cuidado, retire la muestra de la prueba de 50 µL del líquido sobrenadante. Si se forma una capa de lípido en la superficie del líquido, asegúrese de que la muestra se toma del líquido transparente que queda debajo.
- La sangre total recogida por venopunción se debe guardar a temperaturas entre 2 °C y 8 °C. No congele los especímenes de sangre total. Realice la prueba en los 7 días siguientes a la recogida.
- La sangre total recogida por punción digital se debe someter inmediatamente a la prueba.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Extraiga el número de tiras de análisis que desee de la tarjeta de 10 pruebas doblando y rasgando por la línea perforada.

La prueba es para realizarla a temperatura entre 15-30 °C.

NOTA:

- Para conservar el número de lote que aparece a la izquierda de la tarjeta de pruebas, extraiga las tiras de análisis empezando por la derecha de la tarjeta de pruebas. El número de lote y la fecha de caducidad no están impresos en las tiras de análisis individuales.
- Comience el ensayo inmediatamente después de retirar la cubierta de lámina protectora de cada tira de análisis. Por debajo del 80 % de humedad relativa, la prueba se puede utilizar durante 30 minutos tras haber retirado la lámina protectora.
- En caso de suero o plasma, asegúrese de mezclar bien la muestra antes de utilizarla. En caso de sangre completa, mezcle bien invirtiendo con suavidad el tubo inmediatamente antes de procesarlo.
- Procesar la muestra en condiciones de temperatura o humedad elevadas puede afectar al aspecto de la barra Ag o Ab. Si la tira reactiva se ha secado parcialmente y es difícil leerla pasados entre 20 y 40 minutos, habrá que repetir la prueba con una nueva tira reactiva y leer el resultado a los 20 minutos. Cuando la tira reactiva se ha secado parcialmente, se ve como un área grisácea mezclada con puntos blancos.
- Si la muestra de suero o plasma no fluye o se observa un flujo anómalo, por ejemplo, si se detiene en mitad de la ventana, centrifugue el espécimen y repita la prueba con una tira de análisis nueva.

PRECAUCIÓN: Puede producirse un flujo anómalo con una muestra de sangre total (por punción digital) si el tubo capilar no está colocado en mitad de la almohadilla para la muestra en posición hacia arriba (vertical). Si esto sucede, recoja una muestra nueva y repita la prueba con una tira de análisis nueva.

1. Retire la cubierta de aluminio protectora de cada prueba.
2. En el caso de muestras de suero o plasma:
   a. Aplique 50 µL de muestra (con pipeta de precisión) a la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).
   b. Espere 20 minutos como mínimo desde el momento en que se añade la muestra (hasta 40 minutos como máximo) y lea el resultado.
3. En el caso de muestras de sangre total (venopunción):
   a. Aplique 50 µL de muestra (con pipeta de precisión) a la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).
   b. Espere un minuto y deje que se absorba la muestra; posteriormente, aplique una sola gota del buffer de detección a la almohadilla para la muestra, manteniendo la botella en posición vertical.
   c. Espere 20 minutos como mínimo desde el momento en que se añade la muestra (hasta 40 minutos como máximo) y lea el resultado.
4. Para muestras de sangre total (por punción digital) con el uso de un tubo capilar EDTA:
   a. Coloque el tubo capilar que contiene la muestra de sangre en mitad de la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha) en posición hacia arriba (vertical).
   b. Espere hasta que toda la sangre haya pasado del tubo capilar a la almohadilla para la muestra. A continuación, aplique inmediatamente una sola gota del buffer de detección a la almohadilla para la muestra, manteniendo la botella en posición vertical.
      Precaución: no levante el tubo capilar de la almohadilla para la muestra hasta que haya pasado toda la sangre, ya que se puede formar una burbuja que impediría el paso completo de la muestra e invalidaría la prueba. Puede pasar más de un minuto hasta que se haya transferido toda la muestra.
   c. Espere 20 minutos como mínimo desde el momento en que se añade la muestra (hasta 40 minutos como máximo) y lea el resultado.

CONTROL DE CALIDAD

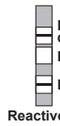
Para garantizar la validez del ensayo, se incorpora una barra de control del procedimiento al dispositivo, que se identifica con la etiqueta “C”. Si, al finalizar el ensayo, no ha aparecido la barra de control, el resultado de la prueba es no válido. Repita la prueba con una tira de análisis nueva.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (consulte las imágenes)

NOTAS:

- Toda reactividad en 1) la barra Ab solamente; 2) la barra Ag solamente; o 3) ambas, tanto la barra Ab como la Ag de forma simultánea, se considera un resultado reactivo que apunta a una infección por VIH.
- Interprete todas las barras de color rojo visible (incluso aunque sea muy débil) en la ventana de control como un resultado válido.
- El resultado de la prueba es reactivo aunque las barras AG o AB sean de un color más claro o más oscuro que la barra de control. Toda barra roja visible, independientemente de lo débil que sea, se interpretará como reactiva.
- Una prueba con un fondo muy elevado debe considerarse no válida.
- Si un resultado de prueba no válido se produce varias veces o si desea obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su distribuidor local o llame al servicio de asistencia técnica.

REACTIVO A ANTICUERPOS
(dos barras: la barra de control y la de AB)
Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "C") y en la ventana Ab (identificada con la etiqueta "AB") de la tira. Interprete como un resultado reactivo cualquier barra de color claramente rojo (no importa si apenas puede observarse) en la ventana Ab.



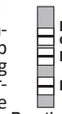
Reactivo a anticuerpos

REACTIVO AL ANTÍGENO (p24)
(dos barras: la barra de control y la de AG)
Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "C") y en la ventana Ag (identificada con la etiqueta "AG") de la tira. Interprete como un resultado reactivo cualquier barra de color claramente rojo en la ventana Ag, incluso si apenas puede observarse. La presencia únicamente de una respuesta al antígeno indica que la infección se encuentra en una fase temprana. Se pueden proponer pruebas complementarias para hacer el seguimiento de la futura detección de anticuerpos prevista.



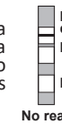
Reactivo a antígeno

REACTIVO A ANTICUERPOS Y REACTIVO AL ANTÍGENO (p24)
(Tres barras: la barra de control, la de AB y la de AG)
Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "C"), la ventana Ab (identificada con la etiqueta "AB") y la ventana Ag (identificada con la etiqueta "AG") de la tira. Interprete como un resultado reactivo cualquier barra de color claramente rojo en las ventanas Ab y Ag.



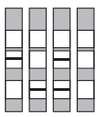
Reactivo a antígeno y anticuerpos

NO REACTIVO (una barra, barra de control)
Aparece una barra de color rojo en la ventana de control de la tira (identificada con la etiqueta "C") y no aparece ninguna barra de color rojo en las ventanas Ab ni Ag de la tira (identificadas con la etiqueta "AG" y "AB").



No reactivo

NO VÁLIDO (sin barra de control)
Si no hay ninguna barra de color rojo en la ventana de control de la tira, aunque aparezca una barra de color rojo en la ventana Ab o la ventana Ag de la tira, el resultado es no válido. Repita la prueba con una tira de análisis nueva.



No válido

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- **Determine** HIV Early Detect se ha diseñado para detectar anticuerpos (Ab) a VIH-1 y/o VIH-2 y el antígeno (Ag) no inmunocomplejo p24 del VIH-1 (en forma libre) en especímenes de sangre total humana capilar y venosa, plasma o suero. Es posible que otros fluidos corporales o los especímenes de un pool no arrojen resultados exactos, por lo que no deben utilizarse.
- La intensidad de las barras AB y AG no está necesariamente correlacionada con la titulación del anticuerpo y el antígeno del espécimen, respectivamente.
- Un resultado reactivo para anticuerpos al VIH-1/2 con un resultado no reactivo para el antígeno p24 del VIH-1 no descarta la posibilidad de infección aguda por VIH.
- La reactividad tanto de las líneas de anticuerpos como de antígenos o la reactividad ante antígenos se podrá corroborar solamente mediante EIA o NAT de 4ª generación en los casos en que esté indicado utilizar IVD como complemento para el diagnóstico. La reactividad ante anticuerpos solamente se podrá corroborar con otra RDT para el antígeno Ab del VIH. Si en pruebas posteriores se obtienen resultados no reactivos, es recomendable repetir la prueba al menos 14 días después de la prueba original. Siga las guías clínicas locales para los métodos de confirmación, si corresponde.
- Ninguna prueba ofrece la certeza absoluta de que un espécimen no contiene niveles bajos de antígeno p24 del VIH-1 y/o anticuerpos al VIH-1 y al VIH-2 como los que están presentes en una fase muy temprana o una fase tardía de la infección por VIH.
- Un resultado no reactivo en ambos casos, anticuerpos para el VIH-1/2 y antígeno p24 del VIH-1, no descarta la posibilidad de exposición al VIH-1 o VIH-2 ni la infección por dichos virus.
- La ausencia de la barra de AG puede producirse cuando todos los antígenos p24 están unidos por los anticuerpos. Si después de la seroconversión la sangre presenta niveles altos de anticuerpos respecto al antígeno p24, los anticuerpos tienden a unirse a los antígenos formando inmunocomplejos. **Determine** HIV Early Detect solo detecta antígenos no inmunocomplejos (en forma libre); no detecta antígenos inmunocomplejos (unidos).
- Se ha demostrado que algunas personas infectadas por el VIH que toman medicamentos antirretrovirales producen resultados falsos negativos cuando se les examina con pruebas de diagnóstico rápido[10,11,12].
- En los casos en que la presentación clínica no concuerde con el resultado no reactivo de la prueba **Determine** HIV Early Detect, habrá que volver a analizar si el paciente presenta anticuerpos frente al VIH con **Determine** HIV Early Detect al menos 14 días después de la prueba original, o con un análisis NAT indicado para el diagnóstico.
- Los especímenes de sangre total o plasma que contengan anticoagulantes que no sean EDTA no se han validado para su uso con **Determine** HIV Early Detect y pueden arrojar resultados incorrectos.
- Los niños nacidos de madres infectadas por el VIH podrían portar anticuerpos maternos y, por ello, dar positivo en la prueba de anticuerpos hasta los dieciocho meses de edad, lo cual no indicaría, necesariamente, el verdadero estado de infección del recién nacido. Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) no recomiendan el uso de la prueba de antígenos p24 del VIH-1 para descartar la infección en neonatos (hasta aproximadamente los dieciocho meses), debido a la escasa sensibilidad, especialmente cuando hay anticuerpos del VIH. El diagnóstico definitivo de infección por VIH en la primera infancia, requiere otros ensayos, entre los que se incluyen el cultivo vírico o la prueba de ácido nucleico para el VIH.[9]
- El tratamiento con biotina a más de 20 mg por día puede hacer que la intensidad de la barra Ag sea menor. Las concentraciones de biotina de hasta 200 ng/mL en suero o plasma no afectan a la sensibilidad. A la barra Ab no le afecta la biotina.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO
SENSIBILIDAD
La sensibilidad se evaluó mediante la realización de pruebas en especímenes para los que se había confirmado la presencia de anticuerpos del VIH, paneles comerciales de seroconversión y paneles para el subtipo VIH-1.

1. Especímenes positivos a anticuerpos del VIH:

Tabla I
Especímenes positivos a anticuerpos del VIH

Tipos	Número de especímenes a prueba	Reactivo con **Determine** HIV Early Detect	Sensibilidad
VIH-1	422	422	100,0%
Subtipos no B de VIH-1*	56	56	100,0%
Grupo O de VIH-1	4	4	100,0%
VIH-2	100	100	100,0%
VIH**	100	100	100,0%
Total	**682**	**682**	**100,0%**

*Subtipos: A, C, D, F, G, H, J, K, y CRF01-AE, CRF02-AG, CRF03-AB, CRF05-DF, CRF09-A/U, CRF11-cpx

** Especímenes obtenidos en Europa

Se realizaron pruebas en un total de 682 especímenes positivos de anticuerpos del VIH confirmados (tabla I). Se ha calculado que la sensibilidad del diagnóstico de anticuerpos de **Determine** HIV Early Detect en esta población de especímenes fue del 100%.

2. Especímenes de seroconversión a VIH: (Consulte la tablaII de la última página).
La sensibilidad de **Determine** HIV Early Detect se evaluó utilizando 31 conjuntos de paneles de seroconversión; cada uno incluía miembros de paneles de seroconversión temprana (98 muestras tempranas en total). Se compararon los resultados con los obtenidos con la unidad de prueba inmunocromatográfica rápida para el VIH de 4.ª generación con marca CE, la unidad de prueba inmunocromatográfica rápida para el VIH de 3.ª generación con marca CE, la unidad EIA de anticuerpo del VIH y la unidad EIA de antígeno del VIH. Además, se compararon los resultados de 20 paneles de seroconversión con los datos obtenidos de la unidad de 4.ª generación para el VIH con marca CE (inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas, [CMIA, por sus siglas del inglés]).
En 28 de 31 paneles, **Determine** HIV Early Detect detectó infección por VIH antes que una unidad de prueba inmunocromatográfica rápida de 3.ª generación. En 11 de 31 paneles, **Determine** HIV Early Detect detectó infección por VIH antes que una unidad de prueba inmunocromatográfica de 4.ª generación.
Determine HIV Early Detect detectó 6 de 20 paneles con una extraccion sanguinea anterior en comparación con la unidad de 4.ª generación (CMIA).
Determine HIV Early Detect detectó 8 de 31 paneles con una extraccion sanguinea anterior en comparación con la unidad de antígeno del VIH (EIA).

3. Antígenos p24 del subtipo VIH-1:
Se prepararon 50 paneles del VIH mediante la dilución de 50 cultivos aislados del VIH que incluían los subtipos del VIH-1 del grupo M: A(4), B(8), C(7), D(5), F(5), G(2), H(1) y CRF01-AE(10), CRF02-AG(2), VIH-1 grupo O(4) y VIH-2(2) con suero humano negativo para el VIH. **Determine** HIV Early Detect detectó todos los paneles del VIH-1 y no detectó los paneles del VIH-2.

4. Sensibilidad analítica del antígeno p24 del VIH-1
Se evaluó la sensibilidad analítica de **Determine** HIV Early Detect mediante la realización de pruebas con el estándar internacional de la OMS para el antígeno p24 del VIH-1 (código del NIBSC: 90/636). Los resultados pusieron de manifiesto que la prueba podía detectar una concentración de 2 UI/mL del antígeno p24 del VIH-1.

ESPECIFICIDAD
Se realizaron pruebas con **Determine** HIV Early Detect en un total de 2469 especímenes de plasma o suero cuyo resultado negativo se había confirmado previamente y se determinó la especificidad para la barra de anticuerpo (Ab) y la barra de antígeno (Ag) (Tabla III). La especificidad de la barra de anticuerpo (Ab) era del 99,96% y la de la barra de antígeno (Ag) del 99,76%.

Tabla III
Especificidad de Determine HIV Early Detect

Población	Número de especímenes examinados	**Determine** HIV Early Detect					
		Barra Ab		Barra Ag		Barras Ab y Ag combinadas	
		Reactivo	No reactivo	Reactivo	No reactivo	Reactivo	No reactivo
Especímenes seronegativos*	1749	0	1749	2	1747	2	1747
Especímenes hospitalizados	218	1	217	2	216	3	215
Mujeres embarazadas	206	0	206	0	206	0	206
Muestras con posibilidad de reacción cruzada**	296	0	296	2	294	2	294
Total	2469	1	2468	6	2463	7	2462
Especificidad (%)		99,96%		99,76%		99,72%	

* Incluidos especímenes obtenidos en Europa (300), EE. UU. (1299) y África (150)

** Para cuadros clínicos diferentes del VIH y sustancias con posibilidad de interferir: Especímenes de anticuerpos reumatoideos, anticuerpos antinucleares, lupus eritematoso sistémico, colesterol elevado, proteína total elevada, IgM elevada, anticuerpos humanos contra la IgC murina, otras infecciones (VHB, VHC, VLTH I o II, CMV, IgG para la toxoplasmosis, sífilis, VHS-1/2 y VEB), pacientes vacunados contra la gripe y pacientes en diálisis

TIPO DE MUESTRA

Tabla IV
Sensibilidad de anticuerpos en especímenes emparejados de sangre total (venopunción y punción digital), suero y plasma

N.º de especímenes examinados y comparados	Tipos de especímenes y n.º de reactivos con **Determine** HIV Early Detect (detección de Ab)				Correlación entre matrices
	Suero	Plasma	Sangre total (venopunción)	Sangre total* (punción digital)	
25	25	25	25	NE	100,0%
25	25	25	25	25	100,0%

NE: no examinado *Tubos capilares EDTA

Varios especímenes (emparejados): Se examinaron especímenes seropositivos de un total de 50 personas de África con **Determine** HIV Early Detect (Tabla IV). De los donantes de África se obtuvieron múltiples especímenes (emparejados), 50 especímenes de suero, 50 especímenes de plasma, 50 especímenes de sangre total (venopunción) y 25 especímenes de sangre total (punción digital). Los resultados obtenidos de todas las matrices de especímenes mostraron una correlación del 100%, lo que pone de relieve que **Determine** HIV Early Detect arroja resultados idénticos para estos tipos de matrices de especímenes.

Tabla V
Especificidad en especímenes emparejados de sangre total (venopunción y punción digital), suero y plasma

N.º de especímenes examinados y comparados	Tipos de especímenes y n.º de no reactivos con **Determine** HIV Early Detect				Correlación entre matrices
	Suero	Plasma	Sangre total (venopunción)	Sangre total* (punción digital)	
25	25	25	25	NE	100,0%
25	25	25	25	25	100,0%

NE: no examinado *Tubos capilares EDTA

Varios especímenes (emparejados): Se examinaron especímenes seronegativos de un total de 50 personas de África con **Determine** HIV Early Detect (Tabla V). De los donantes de África se obtuvieron múltiples especímenes (emparejados), 50 especímenes de suero, 50 especímenes de plasma, 50 especímenes de sangre total (venopunción) y 25 especímenes de sangre total (punción digital). Los resultados obtenidos de todas las matrices de especímenes mostraron una correlación del 100%, lo que pone de relieve que **Determine** HIV Early Detect arroja resultados idénticos para estos tipos de matrices de especímenes.

FR

January 2020
241851/R9

Il convient de lire attentivement cette notice d'utilisation avant d'utiliser ce test. Les instructions présentées dans cette notice d'utilisation doivent être scrupuleusement suivies. La fiabilité des résultats du test ne peut être garantie que si les instructions énoncées dans cette notice d'utilisation sont strictement respectées.

NOM ET UTILISATION

Determine™ HIV Early Detect est un test immunologique qualitatif *in vitro* à lecture visuelle pour la détection des anticorps (Ab) anti-VIH-1 et anti-VIH-2 et la détection de l'antigène (Ag) p24 du VIH-1 libre non immunocomplexé dans le sang total par prélèvement capillaire ou veineux, plasma ou sérum humain. Ainsi, une réactivité sur 1) la ligne Ab uniquement, 2) la ligne Ag uniquement ou 3) les deux lignes, Ab et Ag simultanément, est considérée être un résultat réactif suggérant une infection au VIH. Ce test est uniquement prévu pour un usage professionnel et conçu pour une utilisation en tant qu'aide au diagnostic des infections par le VIH-1/VIH-2 chez les adultes et les enfants de plus de 18 mois.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) se caractérise par des modifications de la population des lymphocytes T. Chez le sujet infecté, le virus détruit les cellules T auxiliaires, les CD4, exposant ainsi le sujet à des infections opportunistes et à certaines affections malignes. Il existe 2 types de virus responsables du SIDA, à savoir le VIH-1 et le VIH-2. La multiplication du VIH dans les cellules infectées entraîne une rupture des cellules et, par conséquent, la libération de particules virales du VIH, qui sont détectées initialement sous forme d'ARN du VIH, puis sous forme d'antigène du VIH.[1,2] Il s'ensuit la production d'anticorps spécifiques dirigés contre le VIH-1 ou le VIH-2.[3,4,5] À ce stade, l'antigène du VIH peut devenir indétectable en raison de la formation de complexes anticorps-antigène.

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA PROCÉDURE

Determine HIV Early Detect est un test immunochromatographique pour la détection qualitative de l'antigène p24 du VIH-1 libre et des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon. Il se mélange à des anticorps anti-p24 biotinylés et à des conjugués au colloïde de sélénium recouverts d'antigènes recombinants du VIH-1, du VIH-2 et du VIH-1 groupe O, d'un peptide de synthèse du VIH-2 et d'un anticorps monoclonal de souris anti-p24. Ce mélange continue à migrer sur la phase solide jusqu'à la fenêtre Anticorps (Ab) où sont immobilisés les antigènes recombinants du VIH-1/VIH-1 groupe O et les peptides de synthèse du VIH-1/VIH-2, et jusqu'à la fenêtre Antigène (Ag) où est immobilisée l'avidine.

Si des anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont présents dans l'échantillon, ils se lient aux conjugués au colloïde de sélénium recouverts d'antigènes recombinants du VIH-1, du VIH-2 et du VIH-1 groupe O et d'un peptide de synthèse du VIH-2, ainsi qu'aux antigènes recombinants immobilisés du VIH-1/VIH-1 groupe O et aux peptides de synthèse du VIH-1/VIH-2, formant une ligne rouge au niveau de la fenêtre Ab. Si les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 sont absents, les conjugués au colloïde de sélénium traversent la fenêtre Ab sans former de ligne rouge au niveau de celle-ci.

Si un antigène de p24 VIH-1 libre est présent dans l'échantillon, l'antigène se lie aux anticorps anti-p24 biotinylés et au conjugué au colloïde de sélénium recouvert d'anticorps anti-p24 monoclonaux de souris. Ce complexe se lie à l'avidine immobilisée, formant une ligne rouge au niveau de la zone de la fenêtre Ag. Si l'antigène p24 du VIH-1 est absent, les anticorps anti-p24 biotinylés et le conjugué au colloïde de sélénium traversent la fenêtre Ag sans qu'aucune ligne rouge ne se forme au niveau de celle-ci.

Une ligne de contrôle de bonne procédure est incluse dans le dispositif au niveau de la zone de contrôle afin d'assurer la validité du test.

CONTENU

Determine HIV Early Detect, 20 tests (7D2842) ou 100 tests (7D2843)

Planche de tests **Determine** HIV Early Detect, 2 ou 10 planches (avec 10 tests/planche) recouvertes d'antigène VIH-1/2 recombinant, de peptides de synthèse, d'anticorps anti-p24 et d'avidine.

Accessoires (nécessaires mais non fournis)

Pour tester les échantillons de sang total

- 1 flacon Tampon de migration (7D2243) (2,5 mL) préparé dans du tampon de phosphate. Conservateurs : agents antimicrobiens.

Pour tester les échantillons de sang total (bout du doigt)

- Tubes capillaires avec EDTA (7D2222)

KIT **Determine** HIV Early Detect (7D2843SET) (100 tests pour tester les échantillons de sang total)

- **Determine** HIV Early Detect (7D2843)
- Tampon de migration (7D2243)
- Tubes capillaires avec EDTA (7D2222)
- Lancette (7D2232 ou 7D2233)

Matériel requis non fourni

- Gants jetables, chronomètre
- Micropipette capable de délivrer 50 µL (autre que le prélèvement sur le bout du doigt)
- Écouvillon d'alcool, gaze, lancette (pour prélèvement sur le bout du doigt)

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Destiné à être utilisé pour un diagnostic *in vitro*.

À usage professionnel uniquement.

La fiche de données de sécurité est disponible pour les professionnels sur demande.

ATTENTION : Les pratiques de biosécurité appropriées[7,8] devront être respectées lors de la manipulation des échantillons et des réactifs. Ces précautions comprennent, entre autres, les mesures suivantes :

- Porter des gants.
- Ne pas effectuer les pipetages à la bouche.
- Ne pas manger, boire, fumer ni manipuler des produits cosmétiques ou des lentilles de contact dans les locaux où sont manipulés ces matériaux.
- Nettoyer toutes les éclaboussures d'échantillons ou de réactifs à l'aide d'un désinfectant adapté, tel qu'une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 % ou un autre désinfectant approprié.[7,8]
- Décontaminer et éliminer tous les échantillons, réactifs et autres matériels susceptibles d'avoir été contaminés conformément à la réglementation en vigueur.[7,8]

CONSERVATION

Les planches de tests **Determine** HIV Early Detect et le tampon de migration doivent être conservés entre 2 et 30 °C jusqu'à leur date d'expiration.

- Les composants du kit restent stables jusqu'à leur date d'expiration s'ils sont conservés et manipulés selon les indications fournies. Ne pas utiliser les composants du kit au-delà de leur date d'expiration.
- Ranger immédiatement tous les tests non utilisés dans la poche contenant le dessicant, en appuyant d'une extrémité à l'autre de la fermeture pour la refermer hermétiquement.
- Ne pas utiliser de dispositifs ayant été mouillés ou dont l'emballage a été endommagé.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Prélèvement de sérum, plasma et sang total par ponction veineuse.

Utiliser des tubes de prélèvement avec EDTA pour les échantillons de sang total et de plasma.

- Le sérum, le plasma et le sang total humains prélevés par ponction veineuse doivent être recueillis dans des conditions d'asepsie.
- Pour obtenir le sérum, séparer le sérum du caillot. Pour obtenir du plasma, séparer le plasma des cellules concentrées. Procéder à la séparation des échantillons aussitôt que possible afin d'éviter toute hémolyse.

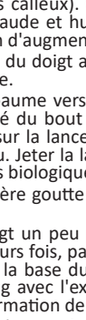
Prélèvement de sang total sur le bout du doigt[6] (voir Fig. 1)

Utiliser des tubes capillaires avec EDTA (7D2222).

ATTENTION : Les tubes capillaires en verre peuvent s'endommager pendant le transport ou en cours d'utilisation. Manipuler avec précaution afin d'éviter tout risque de blessure lors du retrait des tubes de l'emballage, ainsi que pendant leur utilisation et leur élimination.

Avant de prélever un échantillon sur le bout du doigt, placer un tube capillaire sur une surface propre et sèche.

Fig.1



1. Choisir le bout du majeur, de l'annulaire ou de l'index (le moins calleux). Chauffer la main avec une serviette chaude et humide ou bien avec de l'eau chaude afin d'augmenter le débit sanguin.
2. Nettoyer le bout du doigt avec de l'alcool ; laisser sécher à l'air libre.
3. Placer la main paume vers le haut. Placer la lancette sur un côté du bout du doigt. Exercer une pression ferme sur la lancette placée sur le doigt et piquer la peau. Jeter la lancette dans un récipient pour déchets biologiques pointus adéquat.
4. Essuyer la première goutte de sang à l'aide d'une gaze stérile.
5. Maintenir le doigt un peu plus bas que le coude et exercer plusieurs fois, par intermittence, de faibles pressions à la base du doigt piqué. Effleurer la goutte de sang avec l'extrémité du tube capillaire. Éviter la formation de bulles d'air.

   Remplir le tube de sang jusqu'à ce que le niveau se situe entre les 2 traits sur le tube capillaire (50 µL).

CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

- Si le test est effectué dans les 7 jours qui suivent le prélèvement, conserver les échantillons de sérum et de plasma entre 2 °C et 8 °C. S'ils sont analysés plus de 7 jours après le prélèvement, les congeler à une température inférieure ou égale à -20° C.
- Éviter de congeler/décongeler les échantillons à plusieurs reprises.
- Si des échantillons de sérum ou de plasma comportent des particules ou sont troubles, les centrifuger à 10 000 g pendant 5 minutes à température ambiante avant l'échantillonnage. Retirer délicatement les 50 µL d'échantillon test du surnageant. Si une couche lipidique s'est formée à la surface du liquide, veiller à prélever l'échantillon dans le liquide clair situé sous cette couche.
- Le sang total prélevé par ponction veineuse est conservé entre 2 °C et 8 °C. Ne pas congeler les échantillons de sang total. Le test doit être effectué dans les 7 jours suivant le prélèvement.
- Le sang total prélevé sur le bout du doigt doit être analysé immédiatement.

PROCÉDURE DU TEST

Détacher le nombre de tests souhaité de la planche de 10 tests en pliant et déchirant au niveau de la perforation.

Le test doit être effectué entre 15 et 30 °C.

REMARQUE :

- Détacher les bandelettes en commençant par la droite de la planche de tests afin de préserver le numéro de lot apparaissant sur la gauche de cette planche. Le numéro de lot et la date d'expiration ne sont pas imprimés sur chaque bandelette individuelle.
- Commencer le test immédiatement après avoir retiré le film de protection en aluminium de chaque bandelette. Avec une humidité relative inférieure ou jusqu'à 80 %, le test peut être utilisé dans les 30 minutes suivant le retrait du film de protection.
- Pour le sérum ou le plasma, s'assurer de bien mélanger l'échantillon avant de l'utiliser. Pour les échantillons de sang total, bien mélanger en retournant doucement le tube immédiatement avant le test.
- Exécuter le test à température élevée / avec une faible humidité peut affecter l'apparence de la barre Ag ou Ab. Si la bandelette-test est partiellement sèche et difficile à lire de 20 à 40 minutes, le résultat du test doit être répété à l'aide d'une nouvelle bandelette-test et lu à 20 minutes. Lorsque la bandelette-test est partiellement sèche, elle apparaît comme un mélange de taches blanches sur une zone grisâtre.
- Si l'échantillon de sérum ou de plasma ne migre pas ou migre de façon anormale, par exemple s'il s'arrête au milieu de la fenêtre, centrifuger l'échantillon et effectuer le test de nouveau avec une nouvelle bandelette.

ATTENTION : Une migration anormale peut se produire avec un échantillon de sang total (prélevé sur le bout du doigt) si le tube capillaire n'est pas placé au centre de la zone de dépôt de l'échantillon en position verticale. Le cas échéant, prélever un nouvel échantillon et effectuer de nouveau le test avec une nouvelle bandelette.

1. Retirer le film de protection en aluminium de chaque test.
2. Pour les échantillons de plasma ou de sérum :
   a. Distribuer 50 µL d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (indiquée par le symbole d'une flèche).
   b. Attendre au moins 20 minutes après le dépôt de l'échantillon (jusqu'à 40 minutes maximum) et lire le résultat.
3. Pour les échantillons de sang total (prélevés par ponction veineuse) :
   a. Distribuer 50 µL d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (indiquée par le symbole d'une flèche).
   b. Attendre une minute que l'échantillon soit absorbé, puis distribuer une goutte de tampon de migration sur la zone de dépôt de l'échantillon, en tenant le flacon à la verticale.
   c. Attendre au moins 20 minutes après le dépôt de l'échantillon (jusqu'à 40 minutes maximum) et lire le résultat.
4. Pour les échantillons de sang total prélevés au bout du doigt en utilisant un tube capillaire avec EDTA :
   a. Placer le tube capillaire contenant l'échantillon de sang au centre de la zone de dépôt de l'échantillon (indiquée par le symbole d'une flèche) dans une position verticale.
   b. Patienter jusqu'à ce que tout le sang soit transféré du tube capillaire sur la zone de dépôt de l'échantillon. Puis déposer immédiatement une goutte de tampon de migration sur la zone de dépôt, en tenant le flacon à la verticale.

      Attention : ne pas soulever le tube capillaire de la zone de dépôt de l'échantillon tant que tout le sang n'a pas été transféré : une bulle pourrait se former, empêcher le transfert total et rendre le test non valide. Le transfert complet de l'échantillon peut prendre plus d'une minute.
   c. Attendre au moins 20 minutes après le dépôt de l'échantillon (jusqu'à 40 minutes maximum) et lire le résultat.

CONTRÔLE QUALITÉ

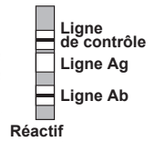
Un contrôle interne de bon fonctionnement de la procédure marqué « C » est inclus dans ce système afin d'assurer la validité du test. Si aucune ligne de contrôle n'apparaît à la fin du temps requis pour le test, le résultat du test n'est pas valide. Recommencer le test en utilisant une nouvelle bandelette.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS (voir images)

REMARQUES :

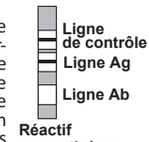
- Une réactivité sur 1) la ligne Ab uniquement, 2) la ligne Ag uniquement ou 3) les deux lignes, Ab et Ag simultanément, est considérée être un résultat réactif suggérant une infection au VIH.
- Interpréter toute ligne rouge apparaissant dans la fenêtre de contrôle (même faiblement) comme un résultat valide.
- Le résultat du test est réactif même si les lignes AG ou AB sont plus claires ou plus foncées que la ligne de contrôle. Toute ligne rouge visible, même de faible intensité, est interprétée comme réactive.
- Un test qui donne un arrière-plan très intense doit être considéré comme non valide.
- Si un résultat non valide venait à se répéter ou pour toute assistance technique, contacter votre fournisseur local ou le support technique.

RÉSULTAT RÉACTIF POUR LES ANTICORPS
(deux lignes - ligne de contrôle et ligne AB)
Des lignes rouges apparaissent dans la fenêtre de contrôle (marquée « C ») et dans la fenêtre Ab (marquée « AB ») de la bandelette. Interpréter comme réactive toute ligne rouge apparaissant dans la fenêtre Ab, aussi faible soit-elle.



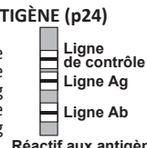
Réactif aux anticorps

RÉSULTAT RÉACTIF POUR L'ANTIGÈNE (p24)
(deux lignes - ligne de contrôle et ligne AG)
Des lignes rouges apparaissent dans la fenêtre de contrôle (marquée « C ») et dans la fenêtre Ag (marquée « AG ») de la bandelette. Interpréter comme réactive toute ligne rouge apparaissant dans la fenêtre Ag, aussi faible soit-elle. La seule présence d'une réponse à l'antigène suggère que l'infection est à un stade précoce. Il est conseillé de procéder à des tests de suivi afin de détecter les anticorps ultérieurement.



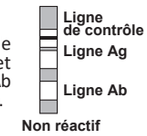
Réactif aux antigènes

RÉSULTAT RÉACTIF AUX ANTICORPS ET À L'ANTIGÈNE (p24)
(Trois lignes - ligne de contrôle, ligne AB et ligne AG)
Des lignes rouges apparaissent dans la fenêtre de contrôle (marquée « C »), dans la fenêtre Ab (marquée « AB ») et dans la fenêtre Ag (marquée « AG ») de la bandelette. Toute ligne rouge apparaissant dans les fenêtres Ab et Ag doit être interprétée comme réactive.



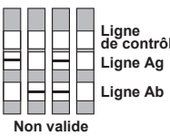
Réactif aux antigènes et aux anticorps

RÉSULTAT NON RÉACTIF
(une ligne - ligne de contrôle)
Une ligne rouge apparaît dans la fenêtre de contrôle de la bandelette (marquée « C »), et aucune ligne rouge n'apparaît dans les fenêtres Ab et Ag de la bandelette (marquée « AG » et « AB »).



Non réactif

TEST NON VALIDE (pas de ligne de contrôle)
Si aucune ligne rouge n'apparaît dans la fenêtre de contrôle de la bandelette, et même si une ligne rouge apparaît dans la fenêtre Ab ou Ag de la bandelette, le résultat n'est pas valide. Recommencer le test en utilisant une nouvelle bandelette.



Non valide

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- **Determine** HIV Early Detect est conçu pour détecter les anticorps (Ab) anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 et l'antigène p24 du VIH-1 libre non-immunocomplexé (Ag) dans le sérum, le plasma et le sang total capillaire et veineux humains. Tout autre échantillon biologique ou des échantillons poolés peuvent donner des résultats imprécis et ne doivent pas être utilisés.
- L'intensité des lignes AB et AG n'est pas nécessairement proportionnelle au titre d'anticorps et d'antigène présents dans l'échantillon.
- Un résultat réactif aux anticorps anti-VIH-1/2 combiné à un résultat non réactif à l'antigène p24 du VIH-1 n'excluent pas la possibilité d'une infection aiguë par le VIH.
- La réactivité pour deux lignes anticorps et antigène, ou la réactivité seulement pour les antigènes peut être confirmée par un test EIA de 4e génération ou un test d'amplification génomique (NAT) pour lequel l'IVD est indiqué comme une aide pour le diagnostic. La réactivité des anticorps ne peut être confirmée que par le biais d'un autre TDR pour les anticorps au VIH. En cas d'absence de réactivité après les tests, il est recommandé de refaire le test au moins 14 jours après l'essai initial. Si besoin, se référer aux recommandations locales pour les techniques de confirmation.
- Aucun test ne peut garantir qu'un échantillon ne contient pas de faibles concentrations en antigène p24 du VIH-1 et/ou en anticorps anti-VIH-1 et anti- VIH-2, telles que celles présentes à un stade très précoce ou à un stade avancé de l'infection.
- Un résultat non réactif aux deux anticorps anti-VIH-1/2 et à l'antigène p24 du VIH-1 n'exclut pas la possibilité d'une exposition au VIH-1 ou au VIH-2 ou d'une infection par ces derniers.
- La ligne Ag peut être absente lorsque tout l'antigène p24 est lié par des anticorps. Lorsque des taux élevés d'anticorps contre l'antigène p24 sont présents dans le sang après la séroconversion, les anticorps ont tendance à se lier aux antigènes, formant des immunocomplexes. **Determine** HIV Early Detect détecte uniquement les antigènes libres non-immunocomplexés ; il ne détecte pas les antigènes immunocomplexés (liés).
- Il a été démontré que certaines personnes ayant une infection connue au VIH et prenant des antirétroviraux présentent des résultats faussement négatifs aux tests de dépistage rapide.[10,11,12]
- Lorsque la clinique n'est pas conforme avec le résultat non réactif donné par le test **Determine** HIV Early Detect, la personne doit être testée de nouveau pour les anticorps au VIH, soit avec **Determine** HIV Early Detect au moins 14 jours après le test original, soit avec un test d'amplification génomique (NAT) indiqué pour le diagnostic.
- Les échantillons de sang total ou de plasma contenant des anticoagulants autres que de l'EDTA n'ont pas été validés avec le test **Determine** HIV Early Detect et peuvent donner des résultats incorrects.
- Les nourrissons nés de mères infectées par le VIH peuvent être porteurs d'anticorps maternels et présentent un résultat positif au test des anticorps jusqu'à l'âge de dix-huit mois, ce qui n'indique pas nécessairement le véritable statut d'infection des nouveau-nés. La recherche de l'antigène p24 du VIH-1 en vue d'exclure une infection chez les nourrissons (jusqu'à l'âge de dix-huit mois environ) n'est pas recommandée par les CDC, en raison de la faible sensibilité de ce test, notamment en présence de l'anticorps anti-VIH. Le diagnostic définitif d'une infection à VIH chez les enfants en bas âge nécessite d'autres tests, dont le test de l'acide nucléique du VIH ou une culture virale.[9]
- Le traitement à la biotine à plus de 20 mg par jour peut entraîner une diminution de l'intensité de la barre Ag. Les concentrations de biotine jusqu'à 200 ng/mL dans le sérum ou le plasma n'ont pas eu d'impact sur la sensibilité.

PERFORMANCES

SENSIBILITÉ

La sensibilité a été évaluée en testant des échantillons confirmés positifs aux anticorps anti-VIH, des panels de séroconversion disponibles dans le commerce et des panels de sous-types du VIH-1.

1. Échantillons positifs aux anticorps anti-VIH :

Tableau I
Échantillons positifs aux anticorps anti-VIH

Types	Nombre d'échantillons testés	Réactif selon le test **Determine** HIV Early Detect	Sensibilité
VIH-1	422	422	100,0 %
Sous-types non B du VIH-1*	56	56	100,0 %
VIH-1 groupe O	4	4	100,0 %
VIH-2	100	100	100,0 %
VIH**	100	100	100,0 %
Total	682	682	100,0 %

* Sous-types : A, C, D, F, G, H, J, K, et CRF01-AE, CRF02-AG, CRF03-AB, CRF05-DF, CRF09-A/U, CRF11-cpx

** Échantillons prélevés en Europe

Un total de 682 échantillons confirmés positifs aux anticorps anti-VIH ont été testés (Tableau I). La sensibilité diagnostique aux anticorps du test **Determine** HIV Early Detect pour cette population d'échantillons était égale à 100 %.

2. Panels de séroconversion VIH : (Voir Tableau II à la dernière page.)

La sensibilité du test **Determine** HIV Early Detect a été évaluée avec 31 ensembles de panels de séroconversion, chacun comprenant des membres de panels de séroconversion précoce (98 échantillons précoces au total). Les résultats ont été comparés à ceux d'une trousse de test immunochromatographique rapide du VIH de 4e génération marquée CE, d'une trousse de test immunochromatographique rapide du VIH de 3e génération marquée CE, d'une trousse de test des anticorps anti-VIH par dosage immunologique ainsi que d'une trousse de test de l'antigène du VIH par dosage immunologique, tous disponibles dans le commerce. En outre, les résultats de 20 panels de séroconversion ont été comparés aux données d'une trousse de 4e génération marquée CE (test immunologique sur microparticules par chimiluminescence [CMIA]).

Sur 28 panels sur 31, le test **Determine** HIV Early Detect a détecté une infection par le VIH plus tôt qu'un test immunochromatographique rapide de 3e génération. Sur 11 panels sur 31, le test **Determine** HIV Early Detect a détecté une infection par le VIH plus tôt qu'un test immunochromatographique rapide de 4e génération.

La détection de six des 20 panels par le test **Determine** HIV Early Detect a été retardée par 1 date de prélèvement par rapport à la trousse de 4e génération kit (CMIA).

La détection de huit des 31 panels par le test **Determine** HIV Early Detect a été retardée par 1 date de prélèvement par rapport à la trousse de trousse de test de l'antigène du VIH par dosage immunologique.

3. Antigènes p24 des sous-types du VIH-1 :

50 panels de virus VIH ont été préparés en diluant 50 isolats de VIH obtenus par culture différents, notamment des sous-types du groupe M du VIH-1 : A(4), B(8), C(7), D(5), F(5), G(2), H(1), et CRF01-AE(10), CRF02-AG(2), HIV-1 groupe O(4) et HIV-2(2) avec sérum humain négatif au VIH. Le test **Determine** HIV Early Detect a détecté tous les panels VIH-1 et n'a pas détecté les panels VIH-2.

4. Sensibilité analytique de l'antigène p24 du VIH-1

La sensibilité analytique du test **Determine** HIV Early Detect a été évaluée en testant l'antigène p24 du VIH-1 du standard international de l'OMS (code NIBSC 90/636). Les résultats ont révélé que le test pouvait détecter une concentration de 2 UI/mL d'antigène p24 du VIH-1.

SPÉCIFICITÉ

Un total de 2 469 échantillons confirmés négatifs de sérum ou de plasma ont été testés à l'aide du **Determine** HIV Early Detect et la spécificité a été évaluée pour les lignes Anticorps (Ab) et Antigène (Ag) (Tableau III). La spécificité était de 99,96 % pour la ligne Anticorps (Ab) et de 99,76 % pour la ligne Antigène (Ag).

Tableau III
Spécificité du test Determine HIV Early Detect

Population	Nombre d'échantillons testés	**Determine** HIV Early Detect					
		Ligne Ab		Ligne Ag		Ligne Ab et Ag combinée	
		Réactif	Non réactif	Réactif	Non réactif	Réactif	Non réactif
Échantillons séronégatifs*	1749	0	1749	2	1747	2	1747
Échantillons en hôpital	218	1	217	2	216	3	215
Femmes enceintes	206	0	206	0	206	0	206
Échantillons pouvant donner potentiellement des réactions croisées**	296	0	296	2	294	2	294
Total	2469	1	2468	6	2463	7	2462
Spécificité (%)		99,96%		99,76%		99,72%	

* Inclut des échantillons prélevés en Europe (300), aux États-Unis (1 299) et en Afrique (150)

** États pathologiques autres que le VIH et substances interférentes potentielles: Facteur rhumatoïde, anticorps antinucléaire, lupus érythémateux systémique, taux de cholestérol élevé, protéinémie totale élevée, taux d'IgM élevé, anti-IgG de souris, autres infections (hépatite B [HBV], hépatite C [HCV], HTLV I ou II, cytomégalovirus [CMV], Toxo IgG, syphilis, HSV 1/2 et EBV), patients vaccinés contre la grippe et échantillons de patients sous dialyse

TYPE D'ÉCHANTILLON

Tableau IV
Sensibilité aux anticorps dans des échantillons appariés de sang total (prélevés par ponction veineuse et au bout du doigt), de sérum et de plasma

Nb d'échantillons appariés testés	Type d'échantillons et nb. de réactifs selon le test **Determine** HIV Early Detect (détection des Ab)				Corrélation entre les matrices
	Sérum	Plasma	Sang total, prélevé par ponction veineuse	Sang total, prélevé sur le bout du doigt*	
25	25	25	25	NT	100,0 %
25	25	25	25	25	100,0 %

NT : non testé *Tubes capillaires avec EDTA

Échantillons (appariés) multiples : Des échantillons séropositifs prélevés sur un total de 50 sujets d'Afrique ont été testés avec **Determine** HIV Early Detect (Tableau IV). Plusieurs échantillons (appariés) (50 échantillons de sérum, 50 échantillons de plasma, 50 échantillons de sang total prélevés par ponction veineuse et 25 échantillons de sang total prélevés sur le bout du doigt) ont été obtenus auprès de ces donneurs. Les résultats obtenus à partir de toutes les matrices d'échantillons ont montré une corrélation à 100 %, démontrant ainsi que le test **Determine** HIV Early Detect offre des résultats identiques pour ces différents types de matrices d'échantillons.

Tableau V
Spécificité dans des échantillons appariés de sang total (prélevés par ponction veineuse et au bout du doigt), de sérum et de plasma

Nb d'échantillons appariés testés	Type d'échantillons et nb. d'échantillons non réactifs selon le test **Determine** HIV Early Detect				Corrélation entre les matrices
	Sérum	Plasma	Sang total, prélevé par ponction veineuse	Sang total, prélevé sur le bout du doigt*	
25	25	25	25	NT	100,0 %
25	25	25	25	25	100,0 %

NT : non testé *Tubes capillaires avec EDTA

Échantillons (appariés) multiples : Des échantillons séronégatifs prélevés sur un total de 50 sujets d'Afrique ont été testés avec **Determine** HIV Early Detect (Tableau V). Plusieurs échantillons (appariés) (50 échantillons de sérum, 50 échantillons de plasma, 50 échantillons de sang total prélevés par ponction veineuse et 25 échantillons de sang total prélevés sur le bout du doigt) ont été obtenus auprès de ces donneurs. Les résultats obtenus à partir de toutes les matrices d'échantillons ont montré une corrélation à 100 %, démontrant ainsi que le test **Determine** HIV Early Detect offre des résultats identiques pour ces différents types de matrices d'échantillons.

PT

Antes de utilizar, leia cuidadosamente este folheto informativo. As instruções contidas no folheto informativo devem ser seguidas rigorosamente. A fiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções contidas neste folheto informativo não forem seguidas à risca.

NOME E UTILIZAÇÃO PREVISTA

Determine™ HIV Early Detect é um ensaio imunológico qualitativo de leitura visual *in vitro* para a deteção de anticorpos (Ab) ao VIH-1 e VIH-2 e do antigénio (Ag) p24 do VIH-1 não imunocomplexo (livre) em sangue total capilar e venoso, plasma ou soro humano. Como tal, qualquer reatividade 1) na barra Ab apenas 2) na barra Ag apenas ou 3) nas barras Ab e Ag em simultâneo é considerada um resultado reativo, sugestivo de infeção por VIH. O teste é apenas para uso profissional e destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico de infeção por VIH-1/VIH-2 em adultos e crianças com idade superior a 18 meses.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

A SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) é caracterizada por alterações na população de linfócitos T. Num indivíduo infetado, o vírus causa depleção das células T auxiliares CD4, o que deixa o indivíduo suscetível a infeções oportunistas e algumas malignidades. O vírus que causa a SIDA existe sob a forma de dois tipos relacionados conhecidos como VIH-1 e VIH-2. A multiplicação do VIH nas células infetadas origina a rutura das células e, consequentemente, a libertação de partículas do vírus VIH, as quais são detetadas, em primeiro lugar, na forma de ARN do VIH e, em segundo lugar, na forma de antigénio de VIH.[1,2] Em seguida, ocorre a produção de anticorpos específicos para o VIH-1 ou VIH-2.[3,4,5] O antigénio de VIH pode tornar-se indetetável neste momento devido à formação de complexos anticorpos-antigénios.

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

Determine HIV Early Detect é um teste imunológico cromatográfico para a deteção qualitativa do antigénio p24 livre do VIH-1 e dos anticorpos ao VIH-1 e VIH-2.

A amostra é colocada na almofada absorvente. A amostra mistura-se com anticorpos anti-p24 biotinilados e conjugados coloides de selénio revestidos com VIH-1, VIH-2 e antigénios O do grupo VIH-1 recombinantes, peptídeo de VIH-2 sintético e anticorpo monoclonal de rato anti-p24. Esta mistura continua a migrar através da fase sólida para os antigénios O recombinantes imobilizados do grupo VIH-1/VIH-1 e peptídeos de VIH-1/VIH-2 sintéticos na janela do Anticorpo (Ab), avidina imobilizada na janela do Antigénio (Ag).

Se os anticorpos ao VIH-1 e/ou ao VIH-2 estiverem presentes na amostra, os anticorpos ligam-se a conjugados coloides de selénio revestidos com VIH-1 e VIH-2 e antigénios O do grupo VIH-1 recombinantes, assim como a peptídeos sintéticos de VIH-2 e VIH-1 recombinante imobilizado/antigénios O do grupo VIH-1 e peptídeos de VIH-1/VIH-2 sintéticos, formando uma barra vermelha na janela do Ab. Se os anticorpos ao VIH-1 e ao VIH-2 estiverem ausentes, os conjugados coloides de selénio fluem através da janela do Ab e não se forma qualquer barra vermelha na área da janela do Ab.

Se o antigénio p24 do VIH-1 livre estiver presente na amostra, o antigénio liga-se aos anticorpos anti-p24 biotinilados e ao conjugado coloide de selénio revestido com anticorpo monoclonal de rato anti-p24. Este complexo liga-se à avidina imobilizada, formando uma barra vermelha na janela do Ag. Se o antigénio p24 do VIH-1 estiver ausente, tanto os anticorpos anti-p24 biotinilados como o conjugado coloide de selénio fluem através da janela do Ag e não se forma qualquer barra vermelha na área da janela do Ag.

Para assegurar a validade do ensaio, encontra-se integrada uma barra de controlo dos procedimentos no dispositivo de ensaio na janela de controlo.

CONTEÚDO

Determine HIV Early Detect 20 Testes (7D2842) ou 100 Testes (7D2843)

Cartão de Testes **Determine** HIV Early Detect, 2 ou 10 cartões (com 10 testes/cartão) revestidos com antigénio recombinante de VIH-1/2, peptídeos sintéticos, anticorpos anti-p24 e avidina.

Acessórios (necessários, mas não fornecidos)

Para testar amostras de sangue total

- Tampão de deteção (7D2243) 1 frasco (2,5 mL) preparado em tampão fosfato. Conservantes: agentes antimicrobianos.

Para testar amostras de sangue total (teste por picada no dedo)

- Tubos capilares EDTA (7D2222)

CONJUNTO **Determine** HIV Early Detect (7D2843SET) (100 testes para testar amostras de sangue total)

- **Determine** HIV Early Detect (7D2843)
- Tampão de deteção (7D2243)
- Tubos capilares EDTA (7D2222)
- Lanceta de sangue (7D2232 ou 7D2233)

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Luvas descartáveis, cronómetro
- Micropipeta capaz de administrar 50 µL (que não picada no dedo)
- Cotonete embebido em álcool, gaze, lanceta (para picada no dedo)

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Para utilização no diagnóstico *In Vitro*.

Exclusivamente para uso profissional.

Folha de dados de segurança disponível a pedido para utilizadores profissionais.

ATENÇÃO: Ao manusear amostras e reagentes, recorra a práticas de biossegurança apropriadas[7,8]. Estas precauções são as seguintes, entre outras:

- Utilizar luvas.
- Não pipetar utilizando a boca.
- Não comer, beber, fumar, aplicar cosméticos ou manusear lentes de contacto em áreas onde estes materiais sejam manuseados.
- Limpar e desinfetar todos os derrames de amostras ou reagentes utilizando desinfetante adequado, como hipoclorito de sódio a 0,5%, ou outro desinfetante adequado.[7,8]
- Descontaminar e eliminar todas as amostras, tiras de teste utilizadas e outros materiais potencialmente contaminados de acordo com os regulamentos locais.[7,8]

ARMAZENAMENTO

Armazene os cartões de teste e o tampão de deteção do **Determine** HIV Early Detect a 2–30 °C até à expiração da data de validade.

- Os componentes do kit permanecem estáveis até à expiração da data de validade caso sejam manuseados e armazenados de acordo com as instruções. Não utilizar os componentes do kit após a expiração da data de validade.
- Voltar a fechar imediatamente todos os testes que não tiverem sido utilizados na bolsa de película de alumínio que contém o dessecante, pressionando o selo de uma extremidade à outra para fechar.
- Não utilizar dispositivos que tenham ficado molhados ou cuja embalagem apresente danos.

COLHEITA DE AMOSTRAS

Colheita de soro, plasma e sangue total por venopunção.

Utilize tubos de colheita EDTA para amostras de plasma e sangue total.

- Recolha soro, plasma e sangue total humano assepticamente por venopunção.
- Para obter o soro, separe-o do coágulo. Para obter o plasma, separe-o dos glóbulos vermelhos. Separe as amostras assim que possível para evitar hemólise.

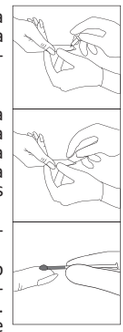
Colheita de sangue total por picada no dedo[6] (consulte a Fig. 1)

Utilize tubos capilares EDTA (7D2222).

ATENÇÃO: Os capilares de vidro podem ficar danificados durante o transporte ou a utilização. Manuseie os capilares com cuidado para evitar danos ao removê-los da embalagem e durante a sua utilização e eliminação.

Antes de colher uma amostra por picada no dedo, coloque um tubo capilar numa superfície limpa e seca.

Fig.1



1. Escolha a ponta do dedo médio, anelar ou indicador (o que apresentar menos calosidade). Aqueça a mão conforme necessário, utilizando uma toalha aquecida e húmida ou água morna, para aumentar o afluxo de sangue.
2. Limpe a ponta do dedo com álcool; deixe secar ao ar.
3. Posicione a mão de forma a ficar com a palma virada para cima. Coloque a lanceta descentrada sobre a ponta do dedo. Pressione firmemente a lanceta contra o dedo e puncione a pele. Elimine a lanceta num recipiente apropriado para materiais cortantes e perfurantes de risco biológico.
4. Limpe a primeira gota de sangue com uma compressa esterilizada.
5. Segure o dedo de modo a ficar num nível inferior ao do cotovelo e aplique uma pressão suave e intermitente na base do dedo puncionado, várias vezes. Encoste a extremidade do tubo capilar à gota de sangue. Evite a entrada de bolhas de ar.
   Encha o tubo com sangue entre as 2 linhas marcadas no tubo capilar (50 µL).

ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

- Armazene as amostras de soro e plasma entre 2–8 °C e realize o teste no prazo de 7 dias após a colheita. Caso se adie a realização do teste para depois dos 7 dias, congele a amostra a –20 °C ou mais frio.
- Evite ciclos de congelamento/descongelamento repetidos.
- Se as amostras de soro ou plasma apresentarem partículas ou turbidez, centrifugue-as a 10,000 g durante 5 minutos à temperatura ambiente antes da colheita. Retire cuidadosamente a amostra de teste de 50 µL do sobrenadante. Caso se forme uma camada lipídica na superfície do líquido, certifique-se de que retira a amostra do líquido transparente que se encontra por baixo dessa camada.
- Armazene o sangue total colhido por venopunção entre 2–8 °C. Não congele amostras de sangue total. Realize o teste no prazo de 7 dias após a colheita.
- O sangue total colhido por picada no dedo deve ser analisado de imediato.

PROCEDIMENTO DE TESTE

Remova o número pretendido de tiras de teste do cartão de 10 testes dobrando e rasgando no local da perfuração.

O teste deve ser realizado entre 15-30 °C.

NOTA:

- Para preservar o número de lote apresentado no lado esquerdo do cartão de teste, remova as tiras de teste individuais começando pelo lado direito do cartão de teste. O número de lote e a data de validade não estão impressos nas tiras de teste individuais.
- Após remover a película de alumínio protetora de cada tira de teste, inicie o teste imediatamente. Com uma humidade relativa igual ou inferior a 80%, o teste pode ser utilizado até 30 minutos depois de retirar a película protetora de alumínio.
- Para soro ou plasma, certificar-se de que mistura exaustivamente a amostra antes da utilização. Para uma amostra de sangue total, misturar bem invertendo o tubo com cuidado imediatamente antes do teste.
- A execução do teste a altas temperaturas/com pouca humidade poderá afetar o aspeto da barra Ag ou Ab. Se a tira de teste estiver parcialmente seca e for difícil ler o resultado após 20 a 40 minutos, o teste deverá ser repetido com uma nova tira de teste e o resultado lido após 20 minutos. Quando a tira de teste está parcialmente seca, surge como uma mancha branca com uma área acinzentada misturada.
- Se a amostra de soro ou plasma não fluir ou apresentar um fluxo anormal, como parar no meio da janela, centrifugue-a e repita o teste com uma nova tira de teste.
  ATENÇÃO: Pode ocorrer um fluxo anormal com uma amostra de sangue total (picada no dedo) se o tubo capilar não for colocado no meio da almofada absorvente na posição vertical. Se tal ocorrer, colha uma nova amostra e repita o teste utilizando uma nova tira.

1. Retire a película de alumínio protetora de cada teste.
2. No caso de amostras de soro ou de plasma:
   a. Aplique 50 µL de amostra (pipeta de precisão) na almofada absorvente (marcada com o símbolo de seta).
   b. Aguarde no mínimo 20 minutos (até 40 minutos no máximo) desde o momento da adição da amostra e leia o resultado.
3. Para amostras de sangue total (venopunção):
   a. Aplique 50 µL de amostra (pipeta de precisão) na almofada absorvente (marcada com o símbolo de seta).
   b. Aguarde um minuto para permitir que a amostra seja absorvida e depois aplique uma gota de tampão de deteção na almofada absorvente, segurando no frasco verticalmente.
   c. Aguarde no mínimo 20 minutos (até 40 minutos no máximo) desde o momento da adição da amostra e leia o resultado.
4. No caso das amostras de sangue total (picada no dedo) utilizando um tubo capilar EDTA:
   a. Coloque o tubo capilar contendo a amostra de sangue no meio da almofada absorvente (marcada com o símbolo de seta) na posição vertical.
   b. Aguarde até que todo o sangue seja transferido do tubo capilar para a almofada absorvente. Em seguida, aplique imediatamente uma gota de tampão de deteção na almofada absorvente, segurando no frasco verticalmente.
      Atenção: não levante o tubo capilar da almofada absorvente antes de o sangue ter sido todo transferido – pode formar-se uma bolha que irá impedir a transferência total da amostra e invalidar o teste. A transferência total da amostra pode demorar mais de um minuto.
   c. Aguarde no mínimo 20 minutos (até 40 minutos no máximo) desde o momento da adição da amostra e leia o resultado.

CONTROLO DE QUALIDADE

Para assegurar a validade do ensaio, o dispositivo tem incorporado um controlo de procedimentos que tem a indicação "C". Se a barra do controlo não aparecer quando o ensaio chegar ao fim, o resultado do teste é inválido. Repita o teste utilizando uma nova tira de teste.

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS (consulte as imagens)

NOTAS:

- Qualquer reatividade 1) na barra Ab apenas 2) na barra Ag apenas ou 3) nas barras Ab e Ag em simultâneo é considerada um resultado reativo, sugestivo de infeção por VIH.
- Interprete qualquer barra vermelha visível (mesmo que muito ténue) na janela de controlo como um resultado válido.
- O resultado do teste é reativo mesmo que a cor das barras do AG ou AB seja mais clara ou mais escura do que a cor da barra do controlo. Qualquer barra vermelha visível, mesmo sendo muito ténue, é interpretada como reativa.
- Um teste que forneça um fundo muito acentuado deve ser considerado inválido.
- Se ocorrer repetidamente um resultado inválido ou se precisar de recorrer à assistência técnica, contacte o seu distribuidor local ou a Assistência Técnica.

REATIVO PARA ANTICORPOS
(Duas barras – Barras do controlo e AB)
Aparecem barras vermelhas tanto na janela do controlo (com a indicação "C") como na janela da barra de Ab (com a indicação "AB") da tira. Interprete qualquer barra vermelha visível na janela do Ab como reativa, independentemente da tenuidade.



Reativo para anticorpos

REATIVO PARA ANTIGÉNIOS (p24)
(Duas barras – Barras do controlo e AG)
Aparecem barras vermelhas tanto na janela do controlo (com a indicação "C") como na janela do Ag (com a indicação "AG") da tira. Interprete qualquer barra vermelha visível na janela do Ag como reativa, independentemente da tenuidade. A presença apenas de uma resposta de antigénio sugere que a infeção se encontra numa fase inicial. Deve ser sugerida a realização de um teste de seguimento, para acompanhar a deteção futura de anticorpos que se espera que ocorra.



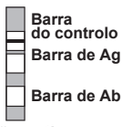
Reativo para antigénios

REATIVO PARA ANTICORPOS E REATIVO PARA ANTIGÉNIOS (p24)
(Três barras – Controlo, AB e AG)
Aparecem barras vermelhas na janela do controlo (com a indicação "C"), na janela do Ab (com a indicação "AB") e na janela do Ag (com a indicação "AG") da tira. Interprete qualquer barra vermelha visível nas janelas do Ab e do Ag como reativa.



Reativo para antigénios e anticorpos

NÃO REATIVO
(Uma barra – Barra do controlo)
Aparece uma barra vermelha na janela do controlo da tira (com a indicação "C") e não aparece nenhuma barra vermelha nas janelas do Ab e do Ag da tira (com a indicação "AG" e "AB").



Não reativo

INVÁLIDO (nenhuma barra de controlo)
Se não houver qualquer barra vermelha na janela do controlo da tira e mesmo que apareça uma barra vermelha numa das janelas do Ab ou do Ag da tira, o resultado é inválido. Repita o teste utilizando uma nova tira de teste.



Inválido

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O **Determine** HIV Early Detect foi concebido para detetar anticorpos (Ab) ao VIH-1 e/ou VIH-2 e o antigénio p24 de VIH-1 não imunocomplexo (livre) em amostras de soro, plasma e sangue total capilar e venoso humano. Outros fluidos corporais ou amostras de "pool" poderão não produzir resultados exatos, não devendo, por isso, ser utilizados.
- A intensidade das barras de AB e AG não está necessariamente relacionada com a concentração de anticorpos e antigénios na amostra, respetivamente.
- Um resultado reativo para anticorpos ao VIH-1/2 combinado com um resultado não-reativo para o antigénio p24 do VIH-1 não exclui a possibilidade de infeção aguda por VIH.
- A reatividade às linhas de anticorpos e antigénios ou aos antigénios apenas só pode ser confirmada por EIA ou NAT de 4.ª geração em que o IVD seja indicado como um auxiliar de diagnóstico. A reatividade aos anticorpos também só pode ser confirmada utilizado outro teste rápido de diagnóstico (RTD) de VIH Ab. Se for não reativo em testes posteriores, recomenda-se a repetição do teste pelo menos 14 dias após o teste original. Siga as normas locais para métodos de confirmação, se aplicável.
- Nenhum teste permite garantir de forma absoluta que uma amostra não contém níveis baixos de antigénio p24 do VIH-1 e/ou anticorpos ao VIH-1 e ao VIH-2, como aqueles presentes numa fase muito inicial ou tardia da infeção por VIH.
- Um resultado simultaneamente não reativo para anticorpos ao VIH-1/2 e antigénio p24 do VIH-1 não exclui a possibilidade de exposição aos ou de infeção pelos vírus VIH-1 ou VIH-2.
- A ausência da barra de AG pode ocorrer quando todo o antigénio p24 está ligado por anticorpos. Quando estão presentes níveis elevados de anticorpos contra o antigénio p24 no sangue após a seroconversão, os anticorpos têm tendência a se ligarem aos antigénios, formando imunocomplexos. O **Determine** HIV Early Detect deteta apenas antigénios não imunocomplexos (livres); não deteta antigénios imunocomplexos (ligados).
- Verificou-se que algumas pessoas, que se sabe estarem infetadas pelo VIH e a fazer terapêutica antirretroviral, produzem resultados falsos negativos quando submetidas a testes de diagnóstico rápido.[10,11,12]
- Quando a apresentação clínica for inconsistente com o resultado não reativo do teste **Determine** HIV Early Detect, o indivíduo deverá repetir o teste para detetar anticorpos anti-VIH com o **Determine** HIV Early Detect pelo menos 14 dias após o teste original ou com um ensaio NAT que seja indicado para diagnóstico.
- Amostras de sangue total ou plasma contendo anticoagulantes que não sejam EDTA não foram validadas para a utilização com o **Determine** HIV Early Detect e podem apresentar resultados incorretos.
- Bebés nascidos de mães infetadas pelo VIH podem ser portadores de anticorpos maternos e apresentarão resultados de teste positivos para anticorpos até aos dezoito meses de idade, o que não indica necessariamente que estejam realmente infetados. A utilização do teste de antigénio p24 do VIH-1 para excluir a infeção nos recém-nascidos (até cerca de dezoito meses) não é recomendada pelo CDC, devido à fraca sensibilidade, especialmente na presença de anticorpos anti-VIH. O diagnóstico definitivo de infeção por VIH na primeira infância requer outros ensaios, incluindo teste de ácido nucleico do VIH ou cultura viral.[9]
- Um tratamento com biotina superior a 20 mg por dia poderá resultar numa diminuição da intensidade da barra Ag. Concentrações de biotina até 200 ng/mL no soro ou plasma não tiveram impacto na sensibilidade. A biotina não tem impacto na barra Ab.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

SENSIBILIDADE

A sensibilidade foi avaliada ao testar amostras confirmadamente positivas de anticorpos ao VIH, painéis de seroconversão comerciais e painéis de vírus de subtipos de VIH-1.

1. Amostras positivas para anticorpos anti-VIH:

Tabela I
Amostras positivas para anticorpos anti-VIH

Tipos	Número de amostras testadas	Reativo por **Determine** HIV Early Detect	Sensibilidade
VIH-1	422	422	100,0%
VIH-1 subtipos não B*	56	56	100,0%
VIH-1 grupo O	4	4	100,0%
VIH-2	100	100	100,0%
VIH**	100	100	100,0%
Total	682	682	100,0%

* Subtipos: A, C, D, F, G, H, J, K e CRF01-AE, CRF02-AG, CRF03-AB, CRF05-DF, CRF09-A/U, CRF11-cpx

** Amostras recolhidas na Europa

Foram testadas ao todo 682 amostras confirmadamente positivas de VIH (Tabela I). Calcula-se que a sensibilidade de diagnóstico do anticorpo do teste **Determine** HIV Early Detect nesta população de amostras seja de 100%.

2. Painéis de seroconversão do VIH: (Consulte a tabela II na última página.)

A sensibilidade do **Determine** HIV Early Detect foi avaliada utilizando 31 conjuntos de painéis de seroconversão; cada um com membros do painel de seroconversão precoce (98 amostras precoces no total). Os resultados foram comparados com os resultados do kit de teste imunológico cromatográfico rápido de 4.ª geração de VIH com marca CE, do kit de teste imunológico cromatográfico rápido de 3.ª geração de VIH com marca CE, do kit EIA de anticorpos de VIH e do kit EIA de antigénios de VIH à venda no mercado. Adicionalmente, os resultados de 20 painéis de seroconversão foram comparados aos dados do kit de 4.ª geração de VIH com marca CE (ensaio imunológico quimioluminescente de micropartículas [CMIA]).

Em 28 de 31 painéis, o **Determine** HIV Early Detect detetou a infeção por VIH mais rápido do que um kit de teste imunológico cromatográfico rápido de 3.ª geração. Em 11 de 31 painéis, o **Determine** HIV Early Detect detetou a infeção por VIH mais rápido do que um kit de teste imunológico cromatográfico rápido de 4.ª geração.

Com o **Determine** HIV Early Detect, foi detetada 1 hemorragia tardia em seis de 20 painéis, em comparação com um kit de 4.ª geração (CMIA).

Com o **Determine** HIV Early Detect, foi detetada 1 hemorragia tardia em oito de 31 painéis, em comparação com um kit de antigénio de VIH (EIA).

3. Antigénios do subtipo p24 do VIH-1:

50 painéis de vírus VIH foram preparados ao diluir 50 estirpes diferentes de VIH cultivadas, incluindo os subtipos do grupo M de VIH-1: A(4), B(8), C(7), D(5), F(5), G(2), H(1) e CRF01-AE(10), CRF02-AG(2), grupo O de VIH-1(4) e VIH-2(2) com soro humano negativo para VIH. O **Determine** HIV Early Detect detetou todos os painéis de VIH-1 e não detetou os painéis de VIH-2.

4. Sensibilidade analítica do antigénio p24 do VIH-1

A sensibilidade analítica do **Determine** HIV Early Detect foi avaliada ao testar o antigénio p24 do VIH-1 da norma internacional da OMS (código 90/636 do NIBSC). Os resultados demonstraram que o teste poderia detetar uma concentração de antigénio p24 do VIH-1 de 2 UI/mL.

ESPECIFICIDADE

Foram testadas ao todo 2469 amostras de plasma ou soro confirmadamente negativas com o **Determine** HIV Early Detect e a especificidade foi determinada para a barra de anticorpo (Ab) e para a barra de antigénio (Ag) (Tabela III).

A especificidade foi de 99,96% para a barra de anticorpo (Ab) e 99,76% para a barra de antigénio (Ag).

Tabela III
Especificidade do Determine HIV Early Detect

População	Número de amostras testadas	**Determine** HIV Early Detect					
		Barra de Ab		Barra de Ag		Barras de Ab e Ag combinadas	
		Reativo	Não reativo	Reativo	Não reativo	Reativo	Não reativo
Amostras seronegativas*	1749	0	1749	2	1747	2	1747
Amostras de pessoas hospitalizadas	218	1	217	2	216	3	215
Mulheres grávidas	206	0	206	0	206	0	206
Amostras com potencial reatividade cruzada**	296	0	296	2	294	2	294
Total	2469	1	2468	6	2463	7	2462
Especificidade (%)		99,96%		99,76%		99,72%	

* Incluindo amostras recolhidas na Europa (300), nos EUA (1299) e em África (150)

** Outras doenças além de VIH e substâncias potencialmente interferentes: Fator reumatoide, anticorpo antinuclear, lúpus eritematoso sistémico, colesterol elevado, proteína total elevada, IgM elevado, IgG anti-humana de ratinho, outras infeções (VHB, VHC, HTLV I ou II, CMV, toxoplasmose IgG, Sífilis, HSV 1/2 e EBV), pacientes vacinados contra a gripe e amostras de pacientes em diálise

TIPO DE AMOSTRA

Tabela IV
Sensibilidade do anticorpo em amostras de sangue total (venopunção e picada no dedo), soro e plasma emparelhadas

N.° de amostras emparelhadas testadas	Tipo de amostras e n.° de resultados reativos pelo **Determine** HIV Early Detect (deteção de Ab)				Correlação entre matrizes
	Soro	Plasma	Sangue total por venopunção	Sangue Total de picada no dedo*	
25	25	25	25	NT	100,0%
25	25	25	25	25	100,0%

NT: não testado *Tubos capilares EDTA

Amostras múltiplas (emparelhadas): Foram testadas amostras seropositivas de um total de 50 indivíduos de África com o **Determine** HIV Early Detect (Tabela IV). Foram obtidas de dadores em África amostras múltiplas (emparelhadas), 50 amostras de soro, 50 amostras de plasma, 50 amostras de sangue total (venopunção) e 25 amostras de sangue total (picada no dedo). Os resultados obtidos com todas as matrizes de amostras apresentaram uma correlação de 100%, o que demonstra que o teste **Determine** HIV Early Detect produz resultados idênticos com estes tipos de matrizes de amostras.

Tabela V
Especificidade em amostras de sangue total (venopunção e picada no dedo), soro e plasma emparelhadas

N.° de amostras emparelhadas testadas	Tipo de amostras e n.° de resultados não reativos pelo **Determine** HIV Early Detect				Correlação entre matrizes
	Soro	Plasma	Sangue total por venopunção	Sangue Total de picada no dedo*	
25	25	25	25	NT	100,0%
25	25	25	25	25	100,0%

NT: não testado *Tubos capilares EDTA

Amostras múltiplas (emparelhadas): Foram testadas amostras seronegativas de um total de 50 indivíduos de África com o **Determine** HIV Early Detect (Tabela V). Foram obtidas de dadores em África amostras múltiplas (emparelhadas), 50 amostras de soro, 50 amostras de plasma, 50 amostras de sangue total (venopunção) e 25 amostras de sangue total (picada no dedo). Os resultados obtidos com todas as matrizes de amostras apresentaram uma correlação de 100%, o que demonstra que o teste **Determine** HIV Early Detect produz resultados idênticos com estes tipos de matrizes de amostras.

Table II/Tabla II/Tableau II/Tabela II
HIV Seroconversion Panels/Especímenes de seroconversión a VIH/ Panels de séroconversion VIH/Painéis de seroconversão do VIH

No/ N.º/ Nº/ N.°	Panel/ Panel/ Panel/ Painel	Days to First Reactive Results/ Días hasta los primeros resultados reactivos/ Jours jusqu'aux premiers résultats réactifs/ Dias até os primeiros resultados reativos				
		Determine™ HIV Early Detect	4th gen rapid test/ Prueba rápida de 4.ª generación/ Test rapide de 4e génération/ Teste rápido de 4.ª geração	3rd gen rapid test/ Prueba rápida de 3.ª generación/ Test rapide de 3e génération/ Teste rápido de 3.ª geração	4th gen kit (CMIA)*/ Kit de 4.ª generación (CMIA)/ Kit de 4e génération (CMIA)/ Kit de 4.ª geração (CMIA)	HIV antigen EIA*/ EIA de antígeno del VIH*/ Test immuno-enzymatique avec l'antigène du VIH*/ EIA do antigénio de VIH*
		Ag/Ab	Ag/Ab	Ab	Ag/Ab	Ag
1	PRB943	12	12	19	7	7
2	PRB956	47	50	>50	47	47
3	PRB958	9	15	15	7	7
4	PRB961	27	29	>29	27	27
5	PRB962	14	14	>17	14	14
6	PRB963	17	17	>21	17	17
7	PRB966	48	51	51	44	44
8	PRB967	17	17	17	17	17
9	PRB968	26	26	28	26	26
10	PRB969	70	70	70	63	63
11	PRB970	7	7	14	0	0
12	PRB972	18	18	18	18	18
13	PRB973	11	11	>11	7	7
14	PRB974	9	16	>16	9	9
15	PRB975	14	>14	>14	14	14
16	PRB976	7	7	>9	7	7
17	PRB977	13	13	15	13	13
18	PRB924	26	26	33	NT	26
19	PRB926	7	7	27	NT	7
20	PRB934	0	7	7	NT	0
21	PRB935	28	28	43	NT	28
22	PRB940	7	7	15	NT	7
23	PRB945	13	13	15	NT	13
24	PRB947	9	9	11	NT	9
25	PRB948	23	23	>23	NT	23
26	PRB949 **	18	18	>18	NT	18
27	PRB951	11	11	19	NT	8
28	PRB955	7	12	12	NT	3
29	9018	28	35	35	28	28
30	9022	25	32	32	25	25
31	9079	40	42	55	40	40
Total/Total/ Total/Total		31	31	31	20	31
Detected earlier than **Determine** HIV Early Detect/ Detectado antes que **Determine** HIV Early Detect/ Détecté plus tôt qu'avec **Determine** HIV Early Detect/ Detetado mais cedo do que com o **Determine** HIV Early Detect			0	0	6	8
Detected same day as **Determine** HIV Early Detect/ Detectado el mismo día que **Determine** HIV Early Detect/ Détecté le même jour qu'avec **Determine** HIV Early Detect/ Detetado no mesmo dia que com o **Determine** HIV Early Detect			20	3	14	23
Detected later than **Determine** HIV Early Detect/ Detectado más tarde que **Determine** HIV Early Detect/ Détecté plus tard qu'avec **Determine** HIV Early Detect/ Detetado mais tarde do que com o **Determine** HIV Early Detect			11	28	0	0

* Vendor certificate data, **PRB949 No.5 was not tested. NT: not tested
* Datos de certificación del vendedor, **PRB949 n.º 5 no se ha examinado. NT: no examinado
* Données du certificat du fournisseur, **PRB949 N° 5 n'a pas été testé. NT : non testé
* Dados de certificado do vendedor. **PRB949 n.° 5 não foi testado. NT: não testado

© 2020 Abbott. All rights reserved. All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

BIBLIOGRAPHY/BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHIE/ BIBLIOGRAFIA

1. Pilcher C, Eron JJ, Galvin S, *et al*. (2004) Acute HIV revisited: new opportunities for treatment and prevention. *The Journal of Clinical Investigations* 113(7): 937-945.
2. Respess RA, Rayfield MA and Dondero TJ (2001) Laboratory testing and rapid HIV assays: applications for HIV surveillance in hard-to-reach populations. *AIDS* 15 Supplement 3: S49-S59.
3. Louie B, Wong E, Klausner JD, *et al.* (2008) Assessment of rapid tests for detection of Human Immunodeficiency Virus-specific antibodies in recently infected individuals. *Journal of Clinical Microbiology* 46(4): 1494-1497.
4. Lyons MS, Lindsell CJ, Hawkins DA, et al. (2008) Contributions to early HIV diagnosis among patients linked to care vary by testing venue. *BMC Public Health* 8:220
5. Gürtler LG, Hauser PH, Eberle J, et al. A New Subtype of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (MVP-5180) from Cameroon. *Journal of Virology*. 1994; 68(3):1581-1585.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard-Sixth Edition GP42-A6 Vol.28 No.25 September 2008
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Clinical Laboratory Waste Management; Approved Guideline –Third Edition. GP05-A3 Vol.31 No.3 January 2011
8. EPA Guide for Infections Waste Management: Publication No. EPA/530-SW-86-014. Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 1986:1-1 ~ 5-5, R1-R3, A1-A24.
9. CDC: 2008 Case Definition; Human Immunodeficiency Virus Infection.
10. Delaney KP, Branson BM, Uniyal A, et al. Evaluation of the Performance Characteristics of 6 Rapid HIV Antibody Tests. *Clinical Infectious Diseases*. 2011; 52(2): 257-263.
11. O'Connell RJ, Merritt TM, Malia JA, et al. Performance of the OraQuick Rapid Antibody Test for Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection in Patients with Various Levels of Exposure to Highly Active Antiretroviral Therapy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41(5):2153-2155.
12. O'Connell RJ, Agan BK, Anderson SA, et al. Sensitivity of the Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test Using Samples from Human Immunodeficiency Virus Type 1-Positive Individuals with Various Levels of Exposure to Highly Active Antiretroviral Therapy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44(5): 1831-1833.

Abbott Rapid Diagnostics ARDx

División: Enfermedades Infecciosas - ID

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

Alere™ HIV Combo

Presentamos el nuevo estándar para el análisis de diagnóstico inmediato del VIH.
Mediante la rápida y precisa identificación de pacientes VIH positivos, puede detectar más casos y derivarlos rápidamente a la atención adecuada.
Con la 4ª generación de la prueba Alere HIV Combo se detectan infecciones más agudas que con la 2ª y 3ª generación. Esto ayuda a reducir la fase de letargo y permite detectar más casos en los momentos en los que las personas poseen una alta capacidad de infección.
Alere HIV Combo proporciona resultados precisos en tan solo 20 minutos y puede utilizar sangre completa de una punción en la yema del dedo, sangre completa de venopunción, o suero/plasma.



Uso previsto

Alere™ HIV Combo es un inmunoanálisis cualitativo in vitro con lectura visual para la detección simultánea del antígeno (Ag) no inmunocomplejo p24 del VIH-1 en forma libre y anticuerpos (Ab) a VIH-1 y VIH-2 en sangre humana. La muestra puede ser suero, plasma, sangre obtenida por un pinchazo en el dedo o sangre total. La prueba está diseñada como un análisis rápido para la detección del antígeno no inmunocomplejo p24 del VIH-1 en forma libre y anticuerpos a VIH-1 y VIH-2 en individuos infectados.

Información de producto

Método de obtención de resultados: flujo lateral
Tiempo de obtención de resultados: 20 minutos
Tipos de muestra: Suero/plasma, sangre completa obtenida por punción en la yema del dedo y por venopunción
Vida útil: 14 meses
Volumen de la muestra: 50 µl
Sensibilidad: 100% *
Especificidad General: 99,72%

* Consulte en la hoja informativa del producto la sensibilidad analítica al antígeno p24 del VIH-1

Revisión: 01
Fecha de revisión: 20-Noviembre-2018

Almacenamiento

Almacenamiento: Conservar en el envase original entre 2°C - 30 °C.
Mantener fuera del alcance de los niños.
Vuelva a guardar inmediatamente las pruebas no utilizadas en la bolsa de aluminio que contiene el desecante presionando el cierre de un extremo a otro para cerrarla.
No utilice dispositivos que se hayan mojado ni en caso de que el empaque se hay estropeado

Números para pedidos

Referencia:
#7D2842 Alere HIV Combo, kit de 20 pruebas
#7D2843 Alere HIV Combo, kit de 100 pruebas

Datos regulatorios

Fabricante:	Alere Medical Co, Ltda
Registro Sanitario:	INVIMA 2016RD-0003578
Clasificación de riesgo:	III
País de origen:	Japón

ONE-STEP Influenza Virus A, B and A(H1N1) Pandemic Rapid Test

SD BIO LINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (09FK53, 19FK32)

Test rapide en une étape de détection du virus de la Grippe de Type A, B et de la souche pandémique A(H1N1).
Prueba Rápida de un paso para Influenza Tipo A,B y A(H1N1) Pandémica
Teste rápido de vírus Influenza tipo A, B e A(H1N1) Pandêmica – passo único
Einstufen-Schnelltest zum Nachweis des Influenzavirus Typ A und B sowie des pandemischen Virus A(H1N1)
Test rapid per la determinazione del virus dell'influenza di tipo A, B e (H1N1) pandemico

ENGLISH

About the test

[Introduction] In April 2009, a new strain of influenza A virus, subtype H1N1 was first detected in the United States. Influenza A (H1N1) or "swine flu" continued to spread globally, and on June 11, 2009, the WHO declared the outbreak a pandemic.
[Intended use] The **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic** test kit is a chromatographic immunoassay for the differential and qualitative detection of influenza virus A, B and A (H1N1) antigens directly from nasal/throat/nasopharyngeal swab or nasal/nasopharyngeal aspirates/lavages/nasal wash specimens. This assay is intended for professional use and for *in vitro* diagnostic use only.
[Test principle] The **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic** test strips are immobilized with mouse monoclonal anti-A(H1N1) hemagglutinin, anti-Influenza A and anti-Influenza B antibodies. The specially selected antibodies are used as detector materials and enable the identification of influenza virus A, B and A (H1N1) antigens directly and with a high degree of accuracy.

Materials provided and active ingredients of main components

The **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic** test kit contains the following items to perform the assay:

1. SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (10 Tests/Kit) Cat. No. 19FK31:
   10 test strips with desiccant in individual foil pouches
   10 Disposable Extraction Tubes
   Assay diluent (1 x 5ml/vial)
   10 Disposable Droppers
   10 Sterilized swabs for sample collection
   3 Control swabs: 1 Influenza A positive control swab, 1 Influenza B positive control swab, and 1 Negative control swab
   1 Instructions for use
2. SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (25 Tests/Kit) Cat. No. 19FK32:
   25 test strips with desiccant in individual foil pouches
   25 Disposable test tubes
   Assay diluent (1 x 15ml/vial)
   25 Disposable Droppers
   25 Sterilized swabs for sample collection
   3 Control swabs: 1 Influenza A positive control swab, 1 Influenza B positive control swab, and 1 Influenza negative control swab
   1 Instructions for use

Active ingredients of main components

1. test strip includes:
   Gold conjugates: Anti-Chicken IgY-conjugated gold colloid (0.027±0.0054μg), Mouse monoclonal anti-A (H1N1) Pandemic hemagglutinin-conjugated gold colloid (0.101±0.012μg), Mouse monoclonal anti-Influenza A virus conjugated-gold colloid (0.081±0.016μg), Mouse monoclonal anti-Influenza B virus conjugated gold colloid (0.081±0.016μg)
   Test Line 'A (H1N1) Pandemic': Mouse monoclonal anti-A (H1N1) Pandemic hemagglutinin (1.068±0.214μg)
   Test Line 'A': Mouse monoclonal anti-Influenza A virus (1.068±0.214μg)
   Test Line 'B': Mouse monoclonal anti-Influenza B virus (0.212±0.142μg)
   Control Line: Mouse monoclonal anti-Chicken IgY (0.554±0.107μg)
2. Assay diluent includes: Tricine (0.4M), NaCl (q.s.), Triton X-100 (q.s.), sodium azide (0.02 w/v%)
3. Control swabs:
   Influenza A positive control swab: Recombinant haemagglutinin of influenza virus A (H1N1) (0.1ng/ml), inactivated influenza virus A (H3N2) (0.1ng/ml)
   Influenza B positive control swab: Inactivated influenza virus B (0.1ng/ml)
   Influenza negative control swab: Formalin-inactivated *Streptococcus pyogenes* (5 x 10⁷ Org)

Kit storage and stability

1. The test kit should be stored at a temperature between 1 °C and 30 °C. Do not freeze the kit or its components.
2. The test strip is sensitive to heat and humidity.
3. Check the humidity indicator on the desiccant for color change and throw the pouch if the color indicates saturation (yellow > green).
4. Perform the test immediately after removing the test strip from the foil pouch.
5. Do not use the test kit beyond its expiration date.
6. The shelf life of the kit is as indicated on the outer package.
7. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.

Specimen collection and handling

[Sample collection]

I. All swab samples
- Nasopharyngeal swab specimens
  To collect a nasopharyngeal swab specimen, insert the swab into nostril parallel to the palate and leave in place for a few seconds to absorb secretions.
  ***** **Note:** It has been reported that a nasopharyngeal swab containing cellular material is preferable to nasal swabs and throat swabs in specimen quality. It is especially important to collect a sufficient quantity of virus from epithelial cells from the nasopharyngeal (mucous) membrane.
- Nasal swab specimens
  To collect a nasal swab specimen, insert the sterile swab into the nostril that presents the most secretion under visual inspection. Using sterile rotation, push the swab until resistance is met at the level of the turbinate (less than 1 inch into the nostril). Rotate the swab a few times against the nasal wall.
- Throat swab specimens
  To collect a throat swab specimen, vigorously rub a rayon throat swab on both tonsillar surfaces and on the posterior pharynx. Remove the swab from the mouth and insert the swab, tip down, into a paper wrapper.

II. Nasal/nasopharyngeal aspirate specimens
- Aspirate or wash volumes between 2ml and 2.5ml are recommended.
- Excessive wash or aspirate volumes may result in decreased test sensitivity. Transfer the specimens into a clean, dry specimen container.
- Process all specimens as described in the "Test procedure" section.

[Specimen transport and storage]
1. Specimen should be tested as soon as possible after collection.
2. Transport fresh specimens in a suitable liquid transport system maintained on ice or refrigerated at a temperature between 2 °C and 8 °C up to 3 days after collection.
3. If transport media is not used, specimens may be refrigerated (2 - 8 °C), or stored at a temperature between 1 °C and 30 °C, in a clean, dry, closed container for up to 8 hours prior to testing.
4. If the specimen should be tested later, swab specimens should be placed into 1 - 2 ml of transport media or saline by direct extraction.
5. **Transport media :** Use of the following transport media has been tested and found to be compatible with the SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic test:
   Saline EMEM+1% BSA
   PBS EMEM+0.5% BSA
   PBS+0.5% BSA Tryptose soy broth+0.5% BSA
   PBS+0.5% gelatin Tryptose soy broth +0.5% gelatin

Test procedure (Refer to figure)

[Specimen extraction]

I. All swab samples not stored in transport media should be extracted by the following method:
1. Allow the test strip and extracted sample to reach a temperature between 15 °C and 30 °C prior to testing.
2. Hold the disposable dropper vertically, draw up assay diluent in the bottle to the Fill Line as shown in the following test procedure figure (approximately 300μl). Transfer 300μl of assay diluents into the test tube.
3. Insert the patient swab sample into the test tube. Swirl the swab head against the inside of the test tube at least five times while squeezing the tube. (Refer to figure)
   Remove the swab while squeezing the tube and then dispose of the used swab in accordance with your facility's biohazard waste disposal protocol.
   Nasal/nasopharyngeal aspirate specimens and swab samples to be placed in transport media by direct extraction:
   Directly pipet 100μl of extracted specimen or aspirates and 100μl of assay diluent into the test tube. Mix specimen.

[Reaction with test strip]
1. Remove the test strip from the foil pouch prior to use.
2. Place the test strip into the test tube with the arrows on the test strip pointing down. Do not handle or move the test strip until the test is complete and ready for reading.
   Read result at 10 - 15 minutes. Some positive results may appear rapidly.
   Caution: Do not read the results after 15 minutes. Reading too late can yield false results.

Test interpretation (Refer to figure)

1. Negative result: Only the control line (C) appears.
2. Positive result
   Positive for influenza virus A (H1N1) Pandemic (Two or three lines appear): One purple control line (C) and the (H1N1)Pandemic or two purple colored lines (A)(H1N1)Pandemic and A) and the control line (C) appear.
   Positive for influenza virus A (Two lines appear): One purple colored line (A) and the control line (C) appears.
   Positive for influenza virus B (Two lines appear): One purple colored line (B) and the control line (C) appears.
   Positive for influenza virus A and B (co-infection suspected) (Three or four lines appear): Two purple colored lines (A and A or B and A)(H1N1) Pandemic or three purple colored lines (A, B and A)(H1N1)Pandemic) and the control line (C) appear.
   Invalid result: The control line (C) fails to appear.
   If the control line is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. It is recommended that the specimen be retested using a new test kit.

Test limitations

1. The SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic test kit is to be used for the qualitative detection of influenza virus A, B and A(H1N1) antigens from nasal/throat/nasopharyngeal swab or nasal/nasopharyngeal aspirate specimens.
2. Failure to follow the instructions for test procedure and interpretation of test results may adversely affect test performance and/or invalidate the test.
3. Test results must be evaluated in conjunction with other clinical data available to the physician.
4. A negative test result may occur if the level of antigen in a sample is below the detection limit of the test or if a sample is collected improperly. Negative test results do not preclude the possibility of infection with other non-influenza viral infections.
5. The influenza A(H1N1) virus exhibits a high frequency of mutation. Specimens from patients infected with a viral mutation can exhibit a negative test result on the "A(H1N1)Pandemic" line, while still presenting a positive result on the "A" line.

Quality control

1. Internal quality control: The test strip has test lines and a control line on the surface of the test strip. Neither the test lines nor the control line is visible in the result window before applying a sample. The control line is used for procedural control and should always appear if the test procedure is performed properly and the test reagents of the control line are working.
   External quality control:
   Control procedures: Positive and negative control swabs should be tested according to the test procedure outlined in the [Specimen extraction] and [Reaction with test strips] sections of these instructions.
   Specification:
   - The influenza A positive control swab should be interpreted as test line "A" and "A (H1N1) Pandemic" positive. The influenza B positive control swab should be interpreted as test line "B" positive. The influenza negative control swab should be interpreted as negative.
   - **Note:** If the test result of the control swab is not as expected, repeat test with a new test strip and extracted control solution. If any problems arise that cannot be resolved by this, please contact your distributor or SD Technical Service team (XKproductsupport@alere.com).

Product Disclaimer:
While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the manufacturer and distributor and test results may accordingly be affected by environmental factors and/or user error. The subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the test result.

Warning:
The manufacturers and distributors of this product shall not be liable for any direct, indirect, or consequential loss, liability, claim, cost or damages arising from or related to an incorrect positive or negative diagnosis using this product.

Performance characteristics

1. Study site 1
A total of 759 samples collected from Korea were tested on the SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic test.

[Influenza A(H1N1)]

Reference Assay	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positive	Negative	Total
Commercial Positive	241	72	313
RT-PCR Negative	1	445	446
Sensitivity (95% CI)	77.0% (72.8%-81.3%)		
Specificity (95% CI)	99.8% (98.7-100%)		

[Influenza B]

Reference Assay	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positive	Negative	Total
Commercial Positive	194	119	313
RT-PCR Negative	1	445	446
Sensitivity (95% CI)	62% (56.5-67.2%)		
Specificity (95% CI)	99.8% (98.7-100%)		

2. Study site 2
A total of 124 samples collected from Korea were tested on the SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic in Korea.

[Influenza A(H1N1)]

Test of reference	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positive	Negative	Total
Commercial Positive	2	0	2
RT-PCR Negative	0	39	39
Sensitivity (95% CI)	100% (34.2-100%)		
Specificity (95% CI)	100% (91-100%)		

[Influenza A]

Test of reference	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positive	Negative	Total
Commercial Positive	4	0	4
RT-PCR Negative	0	39	39
Sensitivity (95% CI)	100% (51-100%)		
Specificity (95% CI)	100% (91-100%)		

[Influenza B]

Test of reference	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positive	Negative	Total
Commercial Positive	67	12	79
RT-PCR Negative	0	39	39
Sensitivity (95% CI)	84.8% (75.3-91.1%)		
Specificity (95% CI)	100% (91-100%)		

3. Cross-reactivity: Cross-reactivity of the SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic test was evaluated with various concentrations of Bacterial 17 species, viral 15 species, other sub-type influenza virus 26 species (A: 22, B: 4). These studies demonstrated no cross-reactivity on SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic test.
   Results of analytical sensitivity of the SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic test are shown below:

Virus type	Strain
Influenza A virus(H1N1)	A/WS/33 (ATCC VR-1520)
Influenza A virus(H3N2)	A/Hong Kong/8/68 (ATCC VR-544)
Influenza B virus	B/Lee/40 (ATCC VR-101)
Influenza A(Pandemic)	A/08/01/2009
Influenza A(Pandemic)	A/California/7/2009 (H1N1)rv(NIBSC, NYMC-X179A)

Analytical sensitivity was established using a total of 5 human epidemic strains of influenza viruses (4 influenza A and 1 influenza B).
5. Reproducibility of the SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic test has been demonstrated by within-run, between-run and batch-to-batch studies using in-house reference panels. All values were identical to reference panel acceptance criteria.



FRANÇAIS

A propos du test

[Introduction] La grippe pandémique de 2009, encore appelée la grippe porcine, est une épidémie mondiale due à l'émergence d'une nouvelle souche du virus de la grippe A de sous-type H1N1, une souche de la grippe porcine, détectée pour la première fois aux États-Unis de la population américaine en avril 2009. Ce virus continuant de se répandre à travers le monde et le 11 Juin 2009, l'OMS a déclaré officiellement la pandémie due à ce virus.
[Usage prévu] Le kit **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic** est un test rapide d'immunochromatographie pour la détection différentielle et qualitative des antigènes du virus de la grippe de type A, B et de la souche pandémique A(H1N1) directement à partir de l'écouvillonnage des fosses nasales, gorge, nasopharynx ou des aspirations nasales / nasopharyngées. Ce test est destiné à un usage professionnel et pour le diagnostic *in vitro* uniquement.
[Principe du test] Le test **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic** est constitué d'une membrane sur laquelle sont immobilisés des anticorps monoclonaux de souris dirigés respectivement contre l'hémagglutinine de la souche Pandemic A(H1N1), le type A et le type B du virus de la grippe. Ces anticorps permettent au cours du test d'identifier avec exactitude les antigènes du virus de la Grippe de type A, de type B et de la souche A(H1N1).

Materiel fourni et principes actifs des principaux composants

Le kit **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic** contient les produits suivants:

1. SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (10 Tests/Kit) Cat. No. 19FK31:
   10 Bandelettes avec agent dessiccant fournies dans des emballages individuels en aluminium
   10 Des tubes jetables
   Diluants de test (1 x 5ml/flacon)
   10 Compte-gouttes jetables
   10 Ecouvillons stériles pour prélèvement
   3 Ecouvillons de contrôle: 1 Ecouvillon de contrôle positif à la grippe A, 1 Ecouvillon de contrôle positif à la grippe B, 1 Ecouvillon de contrôle négatif à la grippe
   1 Mode d'emploi
2. SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (25 Tests/Kit) Cat. No. 19FK32:
   25 Bandelettes avec agent dessiccant fournies dans des emballages individuels en aluminium
   25 Des tubes jetables
   Diluants de test (1 x 15ml/flacon)
   25 Compte-gouttes jetables
   25 Ecouvillons stériles pour prélèvement
   3 Ecouvillons de contrôle: 1 Ecouvillon de contrôle positif à la grippe A, 1 Ecouvillon de contrôle positif à la grippe B, 1 Ecouvillon de contrôle négatif à la grippe
   1 Mode d'emploi

Principes actifs des principaux composants

1. Une bandelette inclut:
   Conjugué or : Anti IgY de poulet-or colloïdal conjugué (0,027±0,0054μg), Anticorps monoclonal de souris anti-hemagglutinine A (H1N1)- or colloïdal conjugué (0,081±0,016μg), Anticorps monoclonal de souris anti-Influenza A or colloïdal conjugué (0,081±0,016μg), Anticorps monoclonal de souris anti-Influenza B or colloïdal conjugué (0,081±0,016μg)
   Ligne test A: anticorps monoclonal de souris dirigés contre l'hémaglutinine du virus type A de la grippe (1,068±0,214μg)
   Ligne test B: anticorps monoclonal de souris dirigés contre le virus type B de la grippe (0,212±0,142μg)
   Ligne Contrôle: anticorps monoclonaux de poussins dirigés contre les anti-IgY de poulet (0,554±0,107μg)
2. Diluants de test inclut: Tricine (0,4M), NaCl (q.s.), Triton-X 100 (q.s.), azide de sodium (0,02w/v%)
3. Ecouvillons de contrôle:
   Ecouvillon de contrôle positif à la grippe A: Hémagglutinine recombinante du virus de la grippe A(H1N1) (0,1ng/ml) et Nucléocapside recombinante du virus de la grippe de type A(H3N2) (0,1ng/ml)
   Ecouvillon de contrôle positif à la grippe B: Nucléocapside recombinante du virus de la grippe de type B (0,1ng/ml)
   Ecouvillon de contrôle négatif à la grippe: *Streptococcus pyogenes* inactivé au formol (5x10⁷ Org)

Stockage et stabilité du kit

1. La bandelette de test doit être conservé entre 1 et 30 °C. Ne pas congeler le kit ni les composants.
2. La bandelette de test est sensible à la chaleur et à l'humidité.
3. Vérifier que l'indicateur d'humidité présent sur le dessicant n'a pas changé de couleur et jeter la pochette si la couleur indique une saturation (jaune > vert).
4. Procéder au test immédiatement après avoir retiré le dispositif de test de son emballage en aluminium.
5. Ne pas utiliser le kit au-delà de la date de péremption.
6. La durée de conservation du kit est indiquée sur l'emballage externe.
7. Ne pas utiliser le kit de test si l'emballage individuel est endommagé ou si la fermeture hermétique a cédé.

Prélèvement et manipulation des échantillons

[Collecte des échantillons]

I. Tous les échantillons prélevés par écouvillon
- Ecouvillonnage nasopharyngé
  Pour prélever par écouvillonnage l'échantillon nasopharyngé introduire l'écouvillon dans la narine parallèlement au palais et le laisser en place quelques secondes afin d'absorber les sécrétions.
  ***** **Note:** Il a été rapporté que l'écouvillon nasopharyngé contenant des cellules est préférable à l'écouvillon nasal et de gorge en termes de qualité. Spécialement, il est important de prélever suffisamment de virus provenant des cellules épithéliales nasopharyngées (muqueux).
- Ecouvillon nasal
  Pour prélever par écouvillonnage des fosses nasales, introduire un écouvillon stérile dans la narine présentant la sécrétion buccale de sécrétions à l'observation. Par une rotation douce, pousser l'écouvillon jusqu'à obtenir une résistance au niveau de l'os (pas moins d'un écouvillon dans chaque narine). Faire des rotations plusieurs fois contre les parois du nez avec l'écouvillon.
- Prélèvement de gorge
  Pour prélever par écouvillonnage l'échantillon de la gorge, frotter vigoureusement à l'aide de l'écouvillon à fin les surfaces des amygdales et du pharynx. Sortir l'écouvillon de la bouche et insérer ce dernier la pointe tournée vers le bas dans un emballage papier.

II. Nasal/nasopharyngeal aspiration
- Un volume 2 - 2,5ml de liquide de lavage ou liquide d'aspiration est recommandé.
- Un excès de volume de lavage ou d'aspiration peut diminuer la sensibilité du test.
- Transférer le Prélèvement dans un tube propre et sec.
- Traitement des échantillons en vrac décrit au chapitre « procédure du test »

[Transport et conservation des échantillons]
1. Echantillon doit être analysé si possible juste après la collecte.
2. Transporter les échantillons frais Prélèvement prélevés au laboratoire le plus rapidement possible avec un système adéquat de transport d'échantillon contenant des paillettes de glace ou réfrigéré entre 2 - 8 °C pendant 3 jours.
3. Si l'on n'utilise pas de milieu de transport, les échantillons pouvaient être conservés au réfrigérateur (2 - 8°C), ou à 1 - 30 °C, dans un flacon propre, sec et fermé jusqu'à 8 heures avant l'analyse.
4. Si l'échantillon est utilisé plus tard pour la réalisation du test, l'écouvillon doit être placé dans 1 - 2 ml de milieu de transport ou dans une solution saline.
5. **Milieux de transport :** l'utilisation des milieux de transport suivants est compatible avec le test SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic.
   Solution saline EMEM+1% BSA
   PBS EMEM+0.5% BSA
   PBS+0.5% BSA, Tryptique soja+0.5% BSA
   PBS+0.5% Gélatine Tryptique soja +0.5% Gélatine

Procédure de test (se référer à l'illustration)

[Extraction de l'échantillon]

I. Tous les échantillons sans milieu de transport, doivent être extraits par la méthode suivante:
1. Laisser la bandelette de test et l'échantillon extrait atteindre une température comprise entre 15 et 30 °C avant de procéder au test.
2. Tenir le compte-goutte jetable verticalement et aspirer avec le diluant jusqu'à la Ligne de Remplissage tel qu'indiqué sur la figure résumant la procédure suivante (environ 300μl). Transférer 300μl de diluant dans le tube test.
   Plonger l'écouvillon du patient dans le tube test. Retourner la tête de l'écouvillon contre la paroi interne du tube test au moins cinq fois en agitant le tube (Confer figure de procédure du test).
   Retirer l'écouvillon tout en pressant le tube et le jeter dans un containeur à déchet approprié.
   Echantillons sous forme de liquide d'aspirations nasales/ oropharyngées et écouvillon déchargé dans de milieu de transport par extraction directe:
   Pipeter directement 100μl de l'échantillon dans un tube et ajouter 100μl de diluant. Bien mélanger l'échantillon.

[Réaction avec la bandelette]
1. Retirer la bandelette test de son sachet d'aluminium.
2. Placer la bandelette dans le tube contenant le mine (échantillon et diluant) en orientant les flèches sur la bandelette vers le bas. Entrer de manipuler ou de déplacer la bandelette jusqu'à la fin de la manipulation et la lecture du résultat.
   Lire le résultat entre 10 - 15 minutes. Certains tests positifs peuvent apparaître plutôt.
   Attention: Ne pas interpréter après 15 minutes. Une lecture tardive peut fausser les résultats.

Interprétation du Test (se référer à l'illustration)

1. Résultat négatif : Une seule bande apparaît sur la ligne contrôle.
2. Resultat positif
   Positif pour le virus de la Grippe A (H1N1) pandémique (Deux ou trois bandes apparaissent): Une bande de couleur pourpre sur la ligne « Ligne A (H1N1) Pandemique » et une bande de couleur pourpre (C) apparaissent ou deux bandes de couleur pourpre (« Ligne A (H1N1) » pandémique & « Ligne A ou type A) et une bande contrôle (ligne C) apparaissent.
   Positif pour le virus de la Grippe de type A (Deux bandes apparaissent): Une bande de couleur pourpre (Ligne A) et une bande contrôle apparaissent.
   Positif pour le virus de la Grippe de type B (Deux bandes apparaissent) : Une bande de couleur pourpre (Ligne B) et une bande contrôle apparaissent.
   Positif pour le virus de la Grippe de type A&B (suspicion d'une co-infection) (Trois ou quatre bandes apparaissent): Quatre bandes - deux bandes de couleur pourpre (Ligne A & ligne B ou ligne B & Ligne A (H1N1) Pandemique) et la bande de contrôle (ligne C) apparaissent quand bandes de couleur pourpre (Ligne A, ligne B, ligne A(H1N1) Pandemique et ligne de contrôle C apparaissent.
3. **Résultat invalide :** La bande contrôle n'est pas apparue.
   Si la bande contrôle n'est pas visible dans la fenêtre résultat après la réalisation du test, le résultat est invalide. Il est recommandé de reprendre le test en utilisant une nouvelle bandelette.

Limites du test

1. Le test rapide SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic est utilisé pour la détection qualitative des Antigènes du virus de la grippe A (H1N1) pandémique et des virus de la grippe de type A et B à partir de l'écouvillonnage nasal, pharyngé, nasopharyngé ou du liquide d'aspiration nasale ou nasopharyngée.
2. Le non respect de la procédure d'utilisation du test ou de l'interprétation des résultats peuvent affecter la performance du test ou rendre le résultat invalide.
3. Les résultats du test doivent être confrontés avec des données cliniques qui soient recherchées par le médecin.
4. Un résultat négatif peut signifier une quantité d'antigène inférieure au seuil de détection du test ou si un prélèvement a été recueilli de manière inadéquate. Des résultats négatifs ne doivent pas exclure des infections virales non groupées.
5. Le virus de la grippe A "H1N1" de 2009 présente une fréquence de mutation élevée. Les échantillons provenant de patients infectés par une mutation virale peuvent présenter un résultat de test négatif pour la grippe de souche "A (H1N1) pandémique", tout en présentant un résultat positif pour la grippe de souche A.

Contrôle de qualité

1. Contrôle de qualité interne: La bandelette du test présente à sa surface une « lignes de test » et une « ligne de contrôle ». Les lignes de test et de contrôle de la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant l'application d'un échantillon. La ligne de contrôle est utilisée à des fins de contrôle de la méthode. La ligne de contrôle du TDR indique seulement que le diluant a été appliqué avec succès et que les ingrédients actifs des principaux composants de la bande test toujours actifs, mais ne garantit pas que l'échantillon a été correctement appliqué. Elle ne correspond ainsi en aucun cas à un contrôle positif.
   Contrôle de Qualité Externe:
   Contrôle des procédures : des échantillons de contrôle positif et négatif doivent être testés selon la procédure d'extraction des échantillons et d'interprétation des résultats.
   Spécification
   - Le Contrôle Positif de la Grippe A doit être interprété positif à la Ligne Test "A" & "A (H1N1) Pandemique" est positive. Le Contrôle Positif de la Grippe B doit être interprété positif si la ligne Test "B" est positive. Le contrôle Négatif de la Grippe doit être interprété négatif.
   - **REMARQUE:** si le résultat du test avec l'écouvillon de contrôle ne correspond pas aux attentes, recommencer le test en utilisant un nouveau bandelette et la solution de contrôle restante après extraction. Si vous rencontrez un problème qui ne peut être résolu en effectuant cette étape, veuillez contacter votre distributeur ou l' équipe du service technique SD (XKproductsupport@alere.com).

Clause de non-responsabilité :
Bien que toutes les précautions soient prises pour assurer le bon fonctionnement et la précision de ce test, il n'est pas utilisé sous le contrôle du fabricant et du distributeur. Le résultat peut être influencé par des facteurs environnementaux et/ou une erreur d'utilisation. Il est fortement recommandé au patient ayant reçu le diagnostic de consulter un médecin pour confirmer le résultat du test.

Attention :
Le fabricant et le distributeur de ce produit ne peuvent, en aucune manière, être tenus responsables des pertes, dommages, réclamations ou coûts, quels qu'ils soient, directs, indirects ou consécutifs, dus ou lié à un diagnostic positif ou négatif erroné établi à l'aide de ce produit.

Caractéristiques de la performance du test

1. Site d'étude 1
Au total, 759 échantillons prélevés en Corée ont été analysés à l'aide du test SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic dans ce pays.

[Influenza A(H1N1)]

Test de référence	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positive	Negatif	Total
Commercial Positif	241	72	313
RT-PCR Negatif	1	445	446
Sensibilité (95% CI)	77.0% (72.8-81.3%)		
Spécificité (95% CI)	99.8% (98.7-100%)		

[Influenza B]

Test de référence	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positif	Negatif	Total
Commercial Positif	194	119	313
RT-PCR Negatif	1	445	446
Sensibilité (95% CI)	62% (56.5-67.2%)		
Spécificité (95% CI)	99.8% (98.7-100%)		

2. Site d'étude 2
Au total, 124 échantillons prélevés en Corée ont été analysés à l'aide du test SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic dans ce pays.

[Influenza A(H1N1)]

Test de référence	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positif	Negatif	Total
Commercial Positif	2	0	2
RT-PCR Negatif	0	39	39
Sensibilité (95% CI)	100% (34.2-100%)		
Spécificité (95% CI)	100% (91-100%)		

[Influenza A]

Test de référence	SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic		
	Positif	Negatif	Total
Commercial Positif	4	0	4
RT-PCR Negatif	0	39	39
Sensibilité (95% CI)	100% (51-100%)		
Spécificité (95% CI)	100% (91-100%)		

la sensibilité du test a été établie en utilisant un total de 5 souches épidémiques de virus de la grippe humaine (4 virus de la grippe A et 1 virus de la grippe B).
5. La reproductibilité des résultats du test SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (intracycle, inter-cycles et inter-lots) a été démontrée par des études comparatives à l'aide de panels internes de référence. Toutes les valeurs étaient identiques aux critères d'acceptation des panels de référence.

ESPAÑOL

Acerca de la prueba

[Introducción] La Influenza pandémica del 2009, o influenza porcina, es un brote global de una nueva cepa del virus Influenza A, subtipo H1N1, un tipo de Influenza porcina, que primero fue detectada en personas en Estados Unidos en Abril del 2009. Este virus continuó su propagación globalmente, el 11 de junio del 2009, la OMS declaro el brote como pandemia.
Una prevista El juego prueba rápida **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic**, es un ensayo inmunocromatográfica para la diferenciación y detección cualitativa de antígenos del virus Influenza tipo A, tipo B y A(H1N1) Pandémica directamente desde un hisopo nasofaríngeo, nasal o faríngeo o muestras de aspirado nasal o nasofaríngeo. Este test de ensayo está indicado solo para uso profesional y para diagnóstico in vitro.
Principio de test El juego de tiras de la prueba de **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic** están inmovilizadas con hemaglutinina anti-A(H1N1) pandémico de ratón, anticuerpos anti-Influenza A y anti-Influenza B, respectivamente. Los anticuerpos especialmente seleccionados son usados como material de detección. Estos permiten el ensayo para identificar el virus Influenza.

Materiales suministrados y principios activos de los principales componentes

El kit de prueba **SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic** de Influenza contiene los siguientes ítems para realizar el ensayo:

1. SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (10 Tests/Kit) Cat. No. 19FK31:
   10 Tiras de prueba con desecante en bolsas de papel de aluminio individuales
   10 Tubos de extracción desechables
   Diluyente de ensayo (1 x 5ml/vial)
   10 Goteros desechables
   10 Hisopos estériles para toma de muestra
   3 Hisopos de control: 1 Hisopo de control positivo de influenza tipo A, 1 Hisopo de control positivo de influenza tipo B, 1 Hisopo de control negativo de influenza
   1 Instrucciones para el uso
2. SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (25 Tests/Kit) Cat. No. 19FK32:
   25 Tira de prueba con desecante en bolsas de papel de aluminio individuales
   25 Tubos de ensayo desechables
   Diluyente de ensayo (1 x 15ml/vial)
   25 Goteros desechables
   25 Hisopo estériles para toma de muestra
   3 Hisopos de control: 1 Hisopo de control positivo de influenza tipo A, 1 Hisopo de control positivo de influenza tipo B, 1 Hisopo de control negativo de influenza
   1 Instrucciones de uso

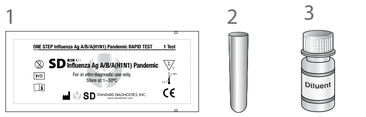
Principios activos de los principales componentes

1 tira de prueba contiene:
Conjugado de oro: Conjugado de oro coloidal con anti-IgY de pollo (0,027±0,0054μg), Coloide de oro conjugado con hemaglutinina anti-A (H1N1) pandémica monoclonal de ratón (0,081±0,016μg), Coloide de oro conjugado con anti-Influenza A tipo A monoclonal de ratón (0,081±0,016μg), Coloide de oro conjugado con anti-virus de la gripe B monoclonal de ratón (0,081±0,016μg)
Línea de Test "A (H1N1) pandémica": Hemaglutinina monoclonal anti-A(H1N1) Pandémica de ratón (1,068±0,214μg)
Línea de test "A": Monoclonal anti-Influenza A virus de ratón (1,068±0,214μg)
Línea de Test "B": Monoclonal anti-Influenza B virus de ratón (0,212±0,142μg)
Línea Control: Monoclonal Anti-Pollo IgY de ratón (0,554 ± 0,107μg)
Diluyente de ensayo contiene:

SD BIO LINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic (19FK31, 19FK32)

Preparation / Préparation / Preparación / Preparação / Zubereitung / Preparazione

1



EN Open the package and look for the following:
1. Test strip with desiccant in individual foil pouch
2. Disposable test tube
3. Assay diluent
4. Disposable dropper
5. Sterilized swab for Sample Collection
6. 3 Control swabs
7. Instructions for use

ES Abra el paquete y busque a continuación:
1. Tiras de prueba con desecante en bolsas de papel de aluminio individuales
2. Tubos de ensayo desechables
3. Diluyente de ensayo
4. Gotarios desechables
5. Hisopo estériles para toma de muestra
6. 3 Hisopos de control
7. Instrucciones de uso

DE Die Verpackung öffnen und überprüfen, ob die folgenden Komponenten enthalten sind:
1. Teststreifen sind mit Trocknungsmittel in einzelnen Folienbeuteln
2. Einweg-Teströhrchen
3. Testverdünner
4. Einweg-Tropfpipetten
5. Sterilisierte Tupfer für die Probennahme
6. 3 Kontrolltupfer
7. Gebrauchsanweisung

FR Ouvrir le kit et vérifier les éléments suivants:
1. Bandelettes avec agent dessiccant fournies dans des emballages individuels en aluminium
2. Des tubes jetables
3. Diluants de test
4. Compte–gouttes jetables
5. Ecouvillons stériles pour prélèvement
6. 3 Ecouvillons de contrôle
7. Mode d'emploi

PT Abra a embalagem e observe abaixo:
1. Tira de teste com dessecante em bolsas de alumínio individuais
2. Tubos de teste descartáveis
3. Diluentes de teste
4. Conta-gotas descartável
5. Swabs esterilizados para coleta de amostra
6. 3 Swabs de controlo
7. Instruções de utilização

IT Aprire la confezione e individuare i seguenti componenti:
1. Striscia di analisi con essiccante in singoli involucri protettivi di alluminio
2. Provette monouso
3. Diluenti di analisi
4. Contagocce monouso
5. Tamponi sterilizzati per la raccolta del campione
6. 3 Tamponi di controllo
7. Istruzioni per l'uso

2

EN First, carefully read the instructions for using the SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic test kit.

PT Primeiro, leia cuidadosamente as instruções para utilizar o kit de teste SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic.

FR Commencer par lire attentivement le mode d'emploi du kit de test SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic.

DE Lesen Sie bitte vor Gebrauch sorgfältig die Gebrauchsanweisung des SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic Testkits durch.

ES Primero, lea detenidamente las instrucciones de uso del kit de análisis SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic.

IT Innanzitutto leggere con attenzione le istruzioni per l'uso del kit del test SD BIOLINE Influenza Ag A/B/A(H1N1) Pandemic.

3

EN Next, look at the expiration date on the back of the foil pouch. If the expiration date has passed, use another kit.

ES A continuación, compruebe la fecha de caducidad en la parte posterior de la bolsa de papel de aluminio. Si la fecha de caducidad ha vencido, utilice otro kit.

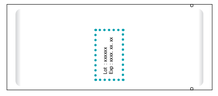
DE Prüfen Sie anschließend das Verfallsdatum auf der Rückseite der Folienpackung. Sollte das Verfallsdatum abgelaufen sein, verwenden Sie ein anderes Kit.

FR Vérifier ensuite la date d'expiration à l'arrière de l'emballage en aluminium. Si la date d'expiration est dépassée, utiliser un autre kit.

PT A seguir, verifique o prazo de validade na parte posterior da bolsa de folha de alumínio. Se o prazo de validade tiver sido ultrapassado, utilize outro kit.

IT Quindi, controllare la data di scadenza sul retro dell'involucro protettivo di alluminio. Se è stata superata la data di scadenza, utilizzare un altro kit.

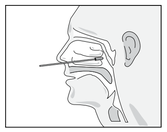
[For example / Par exemple / Por ejemplo / Par exemple / Zum Beispiel / Per esempio]



Test procedure / Procédure du test / Procedimiento de Prueba / Procedimento do teste / Testdurchführung / Procedura del test

I. All swab Samples / Tous les échantillons prélevés par écouvillon / Todas las muestras de hisopo / Todas as amostras de zaragatoas / Alle Tupferproben / Tutti i campioni di tamponi

Sample collection / Collecte des echantillons / Toma de muestra / Recolha de amostra / Probenentnahme / Prelievo del campione



EN Nasopharyngeal swab
FR Ecouvillonnage nasopharyngé
ES Hisopo nasofaríngeo
PT Swab nasofaríngeal
DE Nasopharyngeal-Abstrich
IT Tampone nasofaringeo



EN Nasal swab
FR Ecouvillon nasal
ES Hisopado nasal
PT Swab Nasal
DE Nasenabstrich
IT Tampone nasale



EN Throat Swab
FR Prélèvement de gorge
ES Muestras Faríngeas
PT Swab de garganta
DE Rachenabstrich
IT Tampone faringeo

1



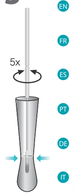
EN Up to Fill Line (approximately 300µl).
FR Jusqu'à la ligne (environ 300µl).
ES Hasta la Línea de llenado (aproximadamente 300µl).
PT Até a linha do preenchimento (aproximadamente 300µl).
DE Bis zur Fülllinie (ca. 300 µl).
IT Fino alla linea di riempimento (circa 300 µl).

2



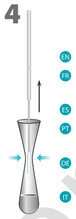
EN Transfer 300µl of assay diluent drawn from bottle to the test tube.
FR Transférez 300µl du diluant dans un tube de test.
ES Transfiera 300µl de diluyente para ensayo a un tubo de ensayo.
PT Transfira 300µl de diluente de ensaio retirado do frasco para um tubo de ensaio.
DE 300 µl Testverdünner aus der Flasche in ein Teströhrchen transferieren.
IT Trasferire 300 µl di diluente di analisi dal flacone a una provetta.

3



EN Insert the swab specimen, swirl the swab at least five times.
FR Insérez l'échantillon, tournez-le au moins cinq fois.
ES Inserte la muestra del hisopo, gire el hisopo al menos cinco veces.
PT Inserir a amostra do esfregaço, gire-o pelo menos cinco vezes.
DE Tupfer einführen und mindestens fünfmal drehen.
IT Inserire il tampone del campione, ruotarlo almeno cinque volte.

4



EN Remove the swab while squeezing.
FR Retirez l'échantillon tout en le serrant.
ES Retire el hisopo presionándolo.
PT Remover of esfregaço enquanto estiver apertando-o.
DE Den Tupfer herausziehen und dabei das Röhrchen zusammendrücken.
IT Rimuovere il tampone premendo sulle pareti della provetta.

5



EN Place the test strip into the test tube.
FR Placez la bandelette du test dans le tube du test.
ES Coloque la tira de prueba en el tubo de ensayo.
PT Coloque a tira do teste dentro do tubo de ensaio.
DE Teststreifen in das Teströhrchen einführen.
IT Posizionare la striscia di analisi nella provetta di analisi.

6



EN Read result at 10-15 minutes. Some positive results may appear rapidly.
FR Lire le résultat entre 10-15 minutes. Certains tests positifs peuvent apparaître plutôt.
ES Lea el resultado al cabo de 10 a 15 minutos. Algunos resultados positivos pueden aparecer antes.
PT Ler o resultado em 10-15 minutos. Alguns resultados positivos podem aparecer antes deste período.
DE Das Ergebnis nach 10-15 Minuten ablesen. Bestimmte positive Ergebnisse können schnell sichtbar werden.
IT Leggere il risultato dopo 10-15 minuti. Alcuni risultati positivi possono apparire prima del previsto.

EN **Caution:** Do not read the results after 15 minutes. Reading too late can yield false results.

ES **Advertencia:** No lea los resultados de la prueba pasados los 15 minutos. La lectura tardía puede proporcionar resultados erróneos.

DE **Vorsicht:** Die Ergebnisse nicht später als nach 15 Minuten ablesen. Zu spät abgelesene Ergebnisse können falsch sein.

FR **Attention:** Ne pas interpréter après 15 minutes. Une lecture tardive peut fausser les résultats.

PT **Atenção:** Não leia os resultados depois de decorridos 15 minutos. Ler demasiado tarde pode dar resultados falsificados.

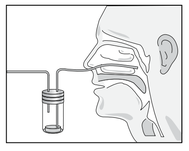
IT **Attenzione:** non leggere i risultati dopo più di 15 minuti. Una lettura tardiva può falsare i risultati.

II. Nasal aspirate, nasopharyngeal aspirate specimen or Extracted specimen into transport media / Aspirat nasal, Aspirat nasopharyngé ou prélèvement extrait dans le mode de transport / Muestra nasal y nasofaríngea por aspiración o muestra extraída en un medio de transporte / Esfregaço Nasal, Amostra de esfregaço nasofaríngeos ou coleta de amostra em fita de transporte / Nasenaspiratproben, Nasopharyngeal-Aspiratproben oder in Transportmedium extrahierte Proben / Campione di aspirato nasale, aspirato nasofaringeo o estratto in terreno di trasporto

Sample collection / Collecte des echantillons / Toma de muestra / Recolha de amostra / Probenentnahme / Prelievo del campione

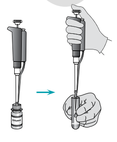


EN Nasal aspirate
FR Aspirat nasal
ES Aspirado nasal
PT Aspiração nasal
DE Nasen-aspiratproben
IT Aspirato nasale



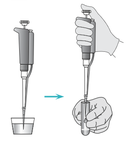
EN Nasopharyngeal aspirate
FR Aspirat nasopharyngé
ES Aspirado nasofaríngeo
PT Aspiração nasofaríngeo
DE Nasopharyngeal-aspiratproben
IT Aspirato nasofaringeo

1



EN Dispense 100µl of assay diluent into the test tube.
FR Transférer 100µl du diluant dans un tube de test.
ES Coloque 100µl de diluyente para ensayo a un tubo de ensayo.
PT Dispense 100µl de ensaio diluente em um tubo de ensaio.
DE 100 µl Testverdünner in ein Teströhrchen abgeben.
IT Dispensare 100 µl di diluenti di analisi in una provetta di analisi.

2



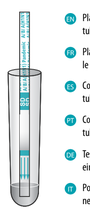
EN Directly pipet 100µl of extracted specimen, or aspirates, transfer specimen into the same test tube.
FR Prenez directement, à l'aide d'une pipette, 100µl de l'échantillon extrait, ou des aspirats , transférez l'échantillon dans le même tube de test.
ES Utilizando directamente una pipeta coloque 100µl de la muestra extraída, o aspiraciones, y transfiera la muestra al mismo tubo de ensayo.
PT Coloque diretamente em uma pipeta 100µl da amostra coletada, ou esfregaços, transfira a amostra no mesmo tubo de ensaio.
DE 100 µl der extrahierten Probe oder des Aspirats direkt pipettieren, Probe in dasselbe Teströhrchen geben.
IT Pipettare direttamente 100 µl di campione estratto o di aspirati, trasferire il campione nella stessa provetta di nalisi.

3



EN Mix specimen well.
FR Bien mélanger l'échantillon.
ES Mezcle bien la muestra.
PT Misture bem a amostra.
DE Probe gut mischen.
IT Miscelare bene il campione.

4



EN Place the test strip into the test tube.
FR Placez la bandelette du test dans le tube du test.
ES Coloque la tira de prueba en el tubo de ensayo.
PT Coloque a tira do teste dentro do tubo de ensaio.
DE Teststreifen in das Teströhrchen einführen.
IT Posizionare la striscia di analisi nella provetta di analisi.

5



EN Read result at 10-15 minutes. Some positive results may appear rapidly.
FR Lire le résultat entre 10-15 minutes. Certains tests positifs peuvent apparaître plutôt.
ES Lea el resultado al cabo de 10 a 15 minutos. Algunos resultados positivos pueden aparecer antes.
PT Ler o resultado em 10-15 minutos. Alguns resultados positivos podem aparecer antes deste período.
DE Das Ergebnis nach 10-15 Minuten ablesen. Bestimmte positive Ergebnisse können schnell sichtbar werden.
IT Leggere il risultato dopo 10-15 minuti. Alcuni risultati positivi possono apparire prima del previsto.

EN **Caution:** Do not read the results after 15 minutes. Reading too late can yield false results.

ES **Advertencia:** No lea los resultados de la prueba pasados los 15 minutos. La lectura tardía puede proporcionar resultados erróneos.

DE **Vorsicht:** Die Ergebnisse nicht später als nach 15 Minuten ablesen. Zu spät abgelesene Ergebnisse können falsch sein.

FR **Attention:** Ne pas interpréter après 15 minutes. Une lecture tardive peut fausser les résultats.

PT **Atenção:** Não leia os resultados depois de decorridos 15 minutos. Ler demasiado tarde pode dar resultados falsificados.

IT **Attenzione:** non leggere i risultati dopo più di 15 minuti. Una lettura tardiva può falsare i risultati.

Interpretation / Interprétation / Interpretación / Interpretação / Erläuterung / Interpretazione

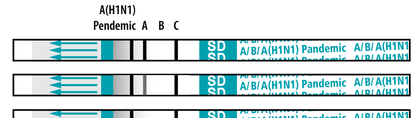
Negative / Négatif / Negativo



EN Only the control line (C) appears.
FR Une seule bande apparait sur la ligne contrôle.
ES Sólo aparece una banda control.
PT Aparece somente uma linha de controlo.
DE Nur eine Kontrollbande erscheint.
IT Appare solo una linea di controllo.

Positive / Positif / Postivo

A (H1N1) Pandemic type / A (H1N1) Pandemic tipo



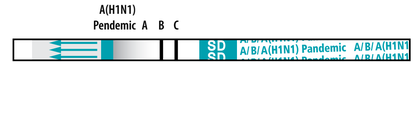
EN Two or three lines appear: One purple colored line (A(H1N1)Pandemic) or two purple colored lines (A(H1N1)Pandemic and A) and the control line (C) appear.
FR Deux Ou trois bandes apparaissent: Une bande de couleur pourpre sur la ligne la « Ligne A (H1N1) Pandémique » et une bande contrôle (ligne C) apparaissent ou deux bandes de couleur pourpre (« Ligne A (H1N1) » pandémique & « Ligne A » du virus type A) et une bande contrôle (ligne C) apparaissent.
ES Dos o tres bandas aparecen: Aparece una banda color púrpura (línea "A (H1N1) Pandemica") o dos bandas color púrpura ("A (H1N1) Pandemica" y "A") y banda control.
PT Aparecem 2 ou 3 linhas: Aparecem uma linha de cor roxa (linha "A (H1N1) Pandemic") ou duas linhas de cor roxa (linha "A (H1N1) Pandêmica" & linha "A") e a linha de controle.
DE zwei oder drei Banden erscheinen: Eine lilafarbene Bande („Pandemische A (H1N1)"-Linie) oder zwei lilafarbene Banden („Pandemische A (H1N1)"-Linie und „A"-Linie) und die Kontrollbande erscheinen.
IT Appaiono due o tre linee: una linea viola (linea "A (H1N1) Pandemico") o due linee viola (linea "A (H1N1) Pandemico" e linea "A") e linea di controllo.

A type / Tipo A



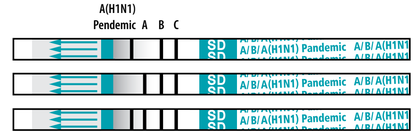
EN Two lines appear: One purple colored line (A) and the control line (C) appear.
FR Deux bandes apparaissent: Une bande de couleur pourpre (Ligne A) et une bande contrôle apparaissent.
ES Dos bandas aparecen: Aparece una banda color púrpura (línea "A") y banda control.
PT Aparecem 2 linhas: Aparecem uma linha de cor roxa (linha "A") e a linha de controlo.
DE zwei Banden erscheinen: Eine lilafarbene Bande („A"-Linie) und die Kontrollbande erscheinen.
IT Appaiono due linee: una linea viola (linea "A") e la linea di controllo.

B type / Tipo B



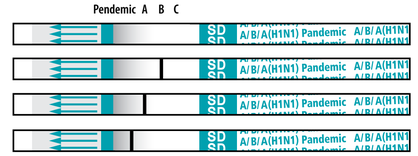
EN Two lines appear: One purple colored line (B) and the control line (C) appear.
FR Deux bandes apparaissent: Une bande de couleur pourpre (Ligne B) et une bande contrôle apparaissent.
ES Dos bandas aparecen: Aparece una banda color púrpura (línea "B") y banda control.
PT Aparecem 2 linhas: Aparecem uma linha de cor roxa (linha "B") e a linha de controlo.
DE zwei Banden erscheinen: Eine lilafarbene Bande („B"-Linie) und die Kontrollbande erscheinen.
IT Appaiono due linee: una linea viola (linea "B") e la linea di controllo.

Co-infection A & B type / Co-infezione tipo A e B



EN Three or four lines appear: Two purple colored lines (B and A or B and A(H1N1)Pandemic) or three purple colored lines (A, B and A(H1N1) Pandemic) and the control line (C) appear.
FR Trois ou quatre bandes apparaissent: Trois bandes : deux bandes de couleur pourpre (Ligne A & ligne B ou ligne B & Ligne A (H1N1) Pandémique) et la bande de contrôle (ligne C) apparaissent quatre bandes de couleur pourpre (Ligne A, ligne B, ligne A(H1N1) Pandémique et ligne de contrôle C apparaissent.
ES Tres o cuatro bandas aparecen: Aparecen dos bandas color púrpura (línea "B" & "A" o línea "B" & "A (H1N1) Pandemica") o tres bandas color púrpura (línea "B" , "A" & "A (H1N1) Pandemica") y banda control.
PT Aparecem 3 ou 4 linhas: Aparecem duas linhas de cor roxa (linha "B" & "A" ou "B" & "A(H1N1) Pandêmica") ou três linhas de cor roxa (linha "A", "B" e "A(H1N1) Pandêmica") e a linha de controlo.
DE Drei oder vier Banden erscheinen: Zwei lilafarbene Banden („B" &„A"-Linie oder „B" und „Pandemische A (H1N1)"-Linie) oder drei lilafarbene Banden („A",„B" und „Pandemische A(H1N1)"-Linie) und die Kontrollbande erscheinen.
IT Appaiono tre o quattro linee: due linee viola (linea "B" e "A" o "B" e "A (H1N1) Pandemico") o tre linee viola (linea "A", "B" e "A(H1N1) Pandemico") e linea di controllo.

Invalid / Invalide / No valido / Inválido



EN The control line (C) fails to appear.
FR La bande contrôle n'est pas apparue.
ES Banda control no aparece.
PT Não aparece uma linha de controlo.
DE Es wird keine Kontrollbande angezeigt.
IT La linea di controllo non appare.

Uncontrolled Copy

Abbott

REF 01PE20, 01PE21

Panbio™

Dengue IgM Capture ELISA

Not for Sale or Distribution in the United States of America
Non destiné à la vente ou à la distribution aux États-Unis
Prohibida su venta o distribución en Estados Unidos de América
Não se destina a Venda ou Distribuição nos Estados Unidos da América
Nicht für den Verkauf oder Vertrieb in den Vereinigten Staaten von Amerika
Non destinato alla vendita o alla distribuzione negli Stati Uniti d'America

INTENDED USE

The Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA is for the qualitative detection of IgM antibodies to dengue antigen in serum, as an aid in the clinical laboratory diagnosis of patients with clinical symptoms consistent with dengue fever. The Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA should be used in conjunction with other dengue serology.

INTRODUCTION

Dengue, a flavivirus, is found in large areas of the tropics and sub-tropics. Transmission is by mosquito, principally *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus.* Dengue virus infection causes a spectrum of clinical manifestations ranging from unapparent to fatal haemorrhagic disease. Classic dengue or breakbone fever is characterised by the sudden onset of fever, intense headache, myalgia, arthralgia and rash. A diphasic febrile course is common as is insomnia and anorexia with loss of taste or bitter taste. Dengue haemorrhagic fever and dengue shock syndrome are severe complications often associated with a second serotype infection.

Detection of IgM antibodies to dengue virus by ELISA is a valuable procedure, particularly in second and subsequent infections where the occurrence of complications is high. Serum IgM antibodies can be detected from dengue patients as early as three to five days after the onset of fever and generally persist for 30 - 90 days, although detectable levels may be present eight months post-infection.

PRINCIPLE

Serum antibodies of the IgM class, when present, combine with anti-human IgM antibodies attached to the polystyrene surface of the microwell test strips. A concentrated pool of Dengue 1-4 Antigens is diluted to the correct working volume with Antigen Diluent. The antigens are produced using an insect cell expression system and immunopurified utilising a specific monoclonal antibody. An equal volume of the HRP Conjugated Monoclonal Antibody (MAb) is added to the diluted antigen, which allows the formation of antigen-MAb complexes. Residual serum is removed from the assay plate by washing, and complexed antigen-MAb is added to the assay plate. After incubation, the microwells are washed and a colourless substrate system, tetramethylbenzidine / hydrogen peroxide (TMB Chromogen) is added. The substrate is hydrolysed by the enzyme and the chromogen changes to a blue colour. After stopping the reaction with acid, the TMB becomes yellow. Colour development is indicative of the presence of anti-dengue IgM antibodies in the test sample.

MATERIALS PROVIDED

Note: 01PE21 = 01PE20 x 5

1. Antibody Coated Microwells - (12 x 8 wells) Microwells are coated with anti-human IgM antibodies. Ready for use. Unused microwells should be resealed immediately and stored in the presence of the desiccant. Stable at 2-8°C until expiry.
2. Dengue 1-4 Antigen (Recombinant) - One **Clear**-capped vial, 150 µL (**Blue**) concentrated dengue viral antigens 1, 2, 3 and 4 with preservative (Proclin™ 300 and gentamycin sulphate). Unused diluted antigen must be discarded. Concentrated antigen is stable at 2-8°C until expiry. ⚠
3. Wash Buffer (20x) - One bottle, 60 mL of 20x concentrate of phosphate buffered saline with Tween 20 and preservative (Proclin™ 300). Crystallisation may occur at low temperatures. To correct, incubate at 37°C until clear. Mix well. Dilute one part Wash Buffer with 19 parts of distilled water. Diluted buffer may be stored for one week at 2-25°C. ⚠

4. Sample Diluent - Two bottles, 50 mL (**Pink**). Ready for use. Tris buffered saline with preservatives (Proclin™ 300) and additives. Stable at 2-8ºC until expiry.
5. Antigen Diluent – One bottle, 50 mL (**Clear**). Ready for use. Phosphate Buffer containing preservatives (Proclin™ 300 and gentamycin sulphate). Stable at 2-8ºC until expiry.
6. HRP Conjugated Monoclonal Antibody - One bottle, 7 mL (**Yellow**). Ready for use. Horseradish peroxidase conjugated 6B6C-1 monoclonal antibody with preservative (Proclin™ 300) and conjugate diluent. Stable at 2-8ºC until expiry.
7. TMB Chromogen (TMB) - One bottle, 15 mL. Ready for use. Working TMB. Stable at 2-8ºC until expiry.
8. Positive Control - One **Black**-capped vial, 200 µL inactivated dengue positive human serum (contains sodium azide and gentamycin sulphate). Stable at 2-8ºC until expiry.
9. Calibrator - One **Orange**-capped vial, 400 µL inactivated dengue positive human serum (contains sodium azide and gentamycin sulphate). Stable at 2-8ºC until expiry.
10. Negative Control - One **White**-capped vial, 200 µL inactivated dengue negative human serum (contains sodium azide and gentamycin sulphate). Stable at 2-8ºC until expiry.
11. Stop Solution - One **Red**-capped bottle, 15 mL. Ready for use. 1M Phosphoric acid. Stable at 2-25ºC until expiry.

Proclin™ 300 is a registered trademark of Rohm and Haas Company.

* Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008:

Product identifier	**Trade name**	Dengue 1-4 Antigen, Wash buffer, Sample diluent, Antigen Diluent , HRP conjugate
	Hazardous substance	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4- isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H -isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)
Classification		Skin corrosion/irritation Category2 Serious eye damage/irritation Category2 Skin sensitization Category1
Hazard Pictogram		
Signal Word		Warning
Hazard Statement		H315: Causes skin irritation H317: May cause an allergic skin reaction H319: Causes serious eye irritation
Precautionary statements		
Prevention		P261: Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray P264: Wash hands thoroughly after handling P272: Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection

ENGLISH

Response	P302+P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do.Continue rinsing P321: Specific treatment P332+P313: If skin irritation occurs: Get medical advice/attention P333+P313: If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention P337+P313: If eye irritation persists: Get medical advice/attention P362: Take off contaminated clothing and wash before reuse P363: Wash contaminated clothing before reuse
Disposal	P501: Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulation

ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Accurate adjustable micropipettors with disposable pipette tips (5-1000 µL capacity)
2. Deionised water
3. Microplate washing system
4. Microplate reader with 450 nm filter
5. Timer
6. Graduated cylinder
7. Flask
8. Test tubes or microtitre plate for serum dilutions
9. Glass or plastic tubes or vials for diluting antigen

WARNINGS

1. For *in vitro* diagnostic use.
2. All human source material used in the preparation of controls has been tested for antibody to human immunodeficiency virus 1 & 2 (HIV 1&2), hepatitis C (HCV) as well as hepatitis B surface antigen and found to be negative. However no test method can offer complete assurance and all human controls and antigen should be handled as potentially infectious material. The Centers for Disease Control and Prevention and the National Institutes of Health recommend that potentially infectious agents be handled at the Biosafety Level 2[1].
3. This test should be performed on serum only. The use of whole blood, plasma or other specimen matrix has not been established.
4. Icteric or lipaemic sera, or sera exhibiting haemolysis or microbial growth should not be used.
5. Do not heat-inactivate sera.
6. All reagents must be equilibrated to room temperature (20-25ºC) before commencing the assay. The assay will be affected by temperature changes. Do not remove microwells from closed bag until they have reached room temperature (20-25ºC).
7. Dispense reagents directly from bottles using clean pipette tips. Transferring reagents may result in contamination.
8. Unused microwells should be resealed immediately and stored in the presence of desiccant. Failure to do this may cause erroneous results.
9. Substrate System:
   (a) As TMB is susceptible to contamination from metal ions, do not allow the substrate system to come into contact

with metal surfaces.

(b) Avoid prolonged exposure to direct light.

(c) Some detergents may interfere with the performance of the TMB.

(d) The TMB may have a faint blue colour. This will not affect the activity of the substrate or the results of the assay.



10. Some kit components contain sodium azide, which may react with lead or copper plumbing to form highly explosive metal azide compounds. When disposing of these reagents through plumbing fixtures, flush with a large volume of water to prevent azide build-up in drains.
11. Sodium azide inhibits conjugate activity. Clean pipette tips must be used for the conjugate addition so that sodium azide is not carried over from other reagents.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Blood obtained by venipuncture should be allowed to clot at room temperature (20-25°C) and then centrifuged according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI – Approved Standard - Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3).

The serum should be separated as soon as possible and refrigerated (2-8°C) or stored frozen (≤-20°C) if not tested within two days. Self-defrosting freezers are not recommended for storage. The use of icteric sera or sera exhibiting haemolysis, lipaemia or microbial growth is not recommended. The CLSI provides recommendations for storing blood specimens, (Approved Standard - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

TEST PROCEDURE

Note: Ensure all reagents are equilibrated to room temperature (20-25°C) before commencing assay. Performing the assay outside the time and temperature ranges provided may produce invalid results. Assays not falling within the established time and temperature ranges must be repeated.

Serum Predilution

1. Remove the required number of microwells from the foil sachet and insert into strip holder. Five microwells are required for Negative Control (N), Positive Control(P) and Calibrator (CAL) in triplicate. Ensure the remaining unused microwells are sealed tightly in the foil sachet.
2. Using suitable test tubes or a microtitre plate, dilute the Negative Control, Positive Control, Calibrator and patient samples:

   (a) To 10 µL serum add 990 µL of Sample Diluent. Mix well.

   Alternatively,

   (b) To 10 µL serum add 90 µL of Sample Diluent. Take 20 µL of the diluted serum and add 180 µL Sample Diluent. Mix well.

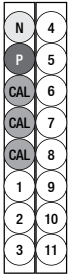
ELISA PROCEDURE

See attached figure for summary of method.

(A) Antigen

1. Determine the required number of wells for your assay. Dilute the antigen 1/250 using the Antigen Diluent. It is recommended, as a minimum, to dilute 10 µL of antigen into 2.5 mL of Antigen Diluent. This is sufficient for up to five strips (40 wells). A volume of 0.5 mL of diluted antigen is required per strip. Once the antigen is added to the Antigen Diluent, the solution becomes a pale blue colour. Ensure the remaining unused concentrated antigen remains at 2-8ºC.
2. Remove the required volume of diluted antigen and mix with an equal volume of MAb Tracer in a clean glass or polypropylene vial. Gently mix the antigen-MAb Tracer solution and leave at room temperature (20-25ºC) until required. Discard the unused diluted antigen.

(B) Assay Plate



1. Within 10 minutes after mixing the MAb Tracer and diluted antigen, pipette 100 µL diluted patient sample and Controls into their respective microwells of the assay plate.
2. Cover the plate and incubate for 1 hour at 37 ±1ºC.
3. Wash six (6) times with diluted Wash Buffer. (Refer to washing procedure).
4. Mix the antigen-MAb tracer solution before transfer. Pipette 100 µL of antigen-MAb complexes from the antigen vial to the appropriate wells of the assay plate.
5. Cover plate and incubate for 1 hour at 37 ±1ºC.
6. Wash six (6) times with diluted Wash Buffer (refer to washing procedure).
7. Pipette 100 µL TMB into each well.
8. Incubate for 10 minutes at room temperature (20-25ºC), timing from the first addition. A blue colour will develop.
9. Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells in the same sequence and timing as the TMB addition. Mix well. The blue colour will change to yellow.
10. Within 30 minutes read the absorbance of each well at a wavelength of 450 nm with a reference filter of 600-650 nm.

Note: If a dual wavelength spectrophotometer is available, set the reference filter between 600-650 nm. Reading the microwells at 450 nm without a reference filter may result in higher absorbance values due to background.

WASHING PROCEDURE

Efficient washing to remove uncomplexed sample or components is a critical requirement of the ELISA procedure.

A. Automated Plate Washer

(1) Completely aspirate all wells.
(2) Fill all wells to rim (350 µL) during wash cycle.
(3) On completion of six (6) washes, invert plate and tap firmly on absorbent paper towel to ensure all Wash Buffer is removed.
(4) Automated plate washers must be well maintained to ensure efficient washing. Manufacturer's cleaning instructions should be followed at all times.

B. Manual Washing

(1) Discard contents of plate in appropriate waste container.
(2) Fill wells with Wash Buffer using a suitable squeeze bottle. Avoid bubbling of Wash Buffer as this may reduce wash efficiency. Discard Wash Buffer from wells immediately.

(3) Refill wells with Wash Buffer and discard immediately.
(4) Repeat step (3) another four times. This will make a total of six (6) washes with Wash Buffer.
(5) After the final wash, discard contents of wells and tap the plate on absorbent paper towel to ensure all Wash Buffer is removed.

INTERNAL QUALITY CONTROL

Each kit contains Calibrator, Positive and Negative Controls. Acceptable values for these are found on the accompanying specification sheet. The Negative and Positive Controls are intended to monitor for substantial reagent failure. The Positive Control will not ensure precision at the assay cut-off. The test is invalid and should be repeated if the absorbance readings of either the Controls or the Calibrator do not meet the specifications. If the test is invalid, patient results cannot be reported.

Quality Control (QC) requirements must be performed in conformance with local, state, and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard QC procedures.

It is recommended that the user refer to CLSI C24-A and 42 CFR 493.1256 for guidance on appropriate QC practices.

CALCULATIONS

IMPORTANT NOTE: The calibration factor is batch specific and is detailed in the specification sheet. Obtain the calibration factor value before commencing calculations.

1. Calculate the average absorbance of the triplicates of the Calibrator and multiply by the calibration factor. This is the Cut-off Value.
2. An index value can be calculated by dividing the sample absorbance by the Cut-off Value (calculated in step (1) above).

Alternatively,

3. Panbio™ Units can be calculated by multiplying the index value (calculated in step (2) above) by 10.

$$\textbf{Index Value} = \frac{\textbf{Sample Absorbance}}{\textbf{Cut-off Value}}$$

Example: Sample A Absorbance = 0.949
Sample B Absorbance = 0.070

Mean absorbance of Calibrator = 0.802
Calibration Factor = 0.62
Cut-off Value = 0.802 x 0.62 = 0.497

Sample A (0.949/0.497) = 1.91 Index value
Sample B (0.070/0.497) = 0.14 Index value

Panbio™ Units = Index Value X 10

Sample A 1.91 X 10 = 19.1 Panbio™ Units
Sample B 0.14 X 10 = 1.4 Panbio™ Units

TEST INTERPRETATION

The cut-off has been determined using endemic populations from South East Asia / South America and a local population from Queensland, Australia, of 208 characterised negative (208/409), 91 positive (91/409) and 110 disease controls samples (110/409). The cut-off was determined by two-graph receiver operating

characteristic analysis (TG-ROC)[2,3]. A cut-off ratio of 1.0 was selected based on the optimal F Value for sensitivity and specificity.
Diagnosis of Dengue Infection: The Dengue IgM Capture ELISA determines the level of IgM antibodies to dengue in a patient's serum. A positive result (> 11 Panbio™ Units) is indicative of either an active primary or secondary dengue infection. If differentiation between primary and secondary infection is required, the Dengue Duo (07PE10) ELISA should be used.

INDEX	Panbio™ UNITS	RESULT
<0.9	<9	Negative
0.9 – 1.1	9 – 11	Equivocal
>1.1	>11	Positive

RESULT	INTERPRETATION
Negative	No detectable IgM antibody. The result does not rule out dengue infection. An additional sample should be tested in 7-14 days if early infection is suspected. Other dengue assays should be performed to rule out acute infection.
Equivocal	Equivocal samples should be repeated. Samples that remain equivocal after repeat testing should be repeated by an alternative method or another sample should be collected.
Positive	Presence of detectable IgM antibody. Other dengue serology assays should be performed to confirm dengue infection.

The following is a recommended method for reporting the results obtained: "The following results were obtained with the Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Values obtained with different methods may not be used interchangeably. The magnitude of the measured result, above the cut-off, is not indicative of the total amount of antibody present." The result should be reported as positive, negative or equivocal, and not as a numerical value.

TEST LIMITATIONS

1. The clinical diagnosis must be interpreted with clinical signs and symptoms of the patient. The results from this kit are not by themselves diagnostic and should be considered in association with other clinical data and patient symptoms.

2. Population seroepidemiology may vary over time in different geographical regions. Consequently, the cut-off may require adjustment based on local studies.
3. Screening of the general population should not be performed. The positive predictive value depends on the likelihood of the virus being present. Testing should only be performed on patients with clinical symptoms or when exposure is suspected.
4. Serological cross-reactivity across the flavivirus group is common (i.e. between dengue 1, 2, 3 & 4, Murray Valley encephalitis, Japanese encephalitis, Yellow fever and West Nile viruses). These diseases must be excluded before confirmation of diagnosis.
5. Heterophilic antibodies are a well-recognised cause of interference in immunoassays[4]. These antibodies to animal IgG may cross-react with reagent antibodies and generate a false positive signal. This must be excluded before confirmation of diagnosis.
6. The performance characteristics have not been established for visual result determination.
7. This assay employs insect expressed proteins. The cross-reactivity or interference of human anti-insect antibodies is unknown with the assay's results.
8. All sera demonstrating a positive result by the Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA test should be referred to a reference laboratory for confirmation of positivity and epidemiological recording.
9. The Panbio™ Dengue Duo ELISA (07PE10) and Panbio™ Dengue IgG Capture-ELISA (01PE10) are most convenient for IgG determination. It uses the same capture method as the IgM ELISA, so both IgM and IgG are determined using a common method and common serum dilution.

EXPECTED VALUES

Primary dengue infection is characterised by the presence of significant or rising levels of IgM 3-5 days after the onset of infection, which can persist for 3-5 months. Secondary infection is characterised by elevation of specific IgG 1-2 days after the onset of infection and in the majority of cases (>70%) is accompanied by elevation of IgM. In early infections and some secondary infections detectable levels of IgM antibodies may be low. Some patients may not produce detectable levels of antibody within the first seven to ten days after infection. Where symptoms persist, we recommend that patients be re-tested seven days after the first specimen.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

255 characterised sera were tested on the Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA as part of an in-house study. The sera included 83 endemic seronegative samples, 57 samples from patients with primary dengue infection, and 115 samples from patients with secondary dengue infection. The Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA results were compared to the dengue status of the sera to determine sensitivity, specificity, and agreement of the assay relative to the dengue serological status. The data is summarised in Table 1.

Table 1
Dengue IgM Serological Sensitivity and Specificity of Panbio™ ELISA versus Dengue Status

Panbio™ ELISA

Dengue Status	Positive	Equivocal[a]	Negative	Total
Seronegative IgM (-) by ELISA	0	0	83	83
Primary Infection IgM (+) by HAI	41	1	1	43
Primary Infection IgM (+) by ELISA	13	0	1	14
Secondary Infection IgG (+) by HAI	41	11	34	86
Secondary Infection IgG (+) by ELISA	23	0	6	29
Total	**118**	**12**	**125**	**255**

			95% CI*
Serological Sensitivity (Primary)	= 54/57	= 94.7%	85.4 – 98.9%
Serological Sensitivity (Secondary)	= 64/115	= 55.7%	46.6 – 64.7%
Serological Specificity (Negative)	= 83/83	= 100.0%	95.7 – 100.0%
Serological Agreement (Excluding Secondary infection sera)	= 137/140	= 97.9%	93.7 – 99.6%

[a] Retesting of equivocal samples was not conducted, as the samples were unavailable.

* Confidence Interval

REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA kit was determined by testing 7 sera 3 times each on three Panbio™ kit batch numbers on three different days. Within-run, between day, between batch and total precision were estimated by analysis of variance (ANOVA Type II) and are presented in Table 2.

Table 2
Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA
Precision Measures (Using Index Value*)

			Within		Between Day		Between Batch		Total	
Sample	**n**	***Mean**	***SD**	**CV**	***SD**	**CV**	***SD**	**CV**	***SD**	**CV**
Positive	27	2.87	0.12	4.3%	0.05	1.7%	0.62	21.6%	0.53	18.6%
Cut-off	27	1.00	0.06	5.7%	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.05	5.3%
Negative	27	0.36	0.06	16.7%	0.00	0.0%	0.16	45.2%	0.15	41.0%
#1	27	6.19	0.31	5.1%	0.12	1.9%	0.41	6.7%	0.48	7.7%
#2	27	5.91	0.21	3.6%	0.11	1.9%	0.52	8.8%	0.49	8.3%
#3	27	1.25	0.05	4.1%	0.00	0.0%	0.10	7.9%	0.10	7.7%
#4	27	1.33	0.07	5.4%	0.03	1.9%	0.07	5.4%	0.10	7.2%
#5	27	1.30	0.08	6.1%	0.00	0.0%	0.12	9.3%	0.13	9.8%
#6	27	0.71	0.04	6.0%	0.00	0.0%	0.01	1.7%	0.04	6.0%
#7	27	0.81	0.06	7.7%	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.06	7.3%

All values are calculated from Index values (Cut-off using OD)
SD = Standard Deviation; CV = Coefficient of Variation

Note: Standard Deviation results have been rounded to two decimal places for tabulation purposes.

* Index value is calculated by dividing the sample absorbance by the cut-off

ENGLISH

CROSS-REACTIVITY

A panel of 115 specimens from patients with confirmed diseases other than dengue fever was tested to establish the analytical specificity of the Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. The specimens were from patients with diseases that have the potential for cross-reactivity. Each of the specimens included in the study was characterised with respect to disease diagnosis prior to analysis with the Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Minimal cross-reactivity was observed for malaria, West Nile virus and rheumatoid factor specimens tested from the disease panel. Refer to Table 3 for a summary of the results.

Table 3
Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA – Cross-reactivity Analysis

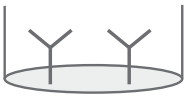
Disease Type	Total Specimens	Positive Result
Epstein-Barr virus	10	(0/10)
Malaria	10	(1/10)
Influenza A	7	(0/7)
Influenza B	3	(0/3)
Anti-nuclear antibody	30	(0/30)
Rheumatoid factor	10	(3/10)
Hepatitis A	9	(0/9)
Leptospira	7	(0/7)
Salmonella typhi	9	(0/9)
Scrub typhus	10	(0/10)
West Nile virus	10	(2/10)
Total	**115**	**(6/115)**

Product. Disclaimer:
While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the manufacturer and distributor and test results may accordingly be affected by environmental factors and/or user error. The subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the test result.

Warning:
The manufacturers and distributors of this product shall not be liable for any direct, indirect, or consequential losses, liability, claims, costs or damages arising from or related to an incorrect positive or negative diagnosis using this product.

Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA 01PE20/01PE21

ASSAY PLATE
anti-human IgM



ANTIGEN-VIAL
Stabilised dengue-antigens

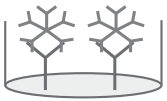


1 Add 100 µL of diluted samples and Controls to assay plate.

1 Add 10 µL of Antigen in 2.5 mL of Antigen Diluent and mix. Unused concentrated antigen should be stored at 2-8 °C.

2 Remove required volume of diluted antigen and mix with an equal volume of MAb HRP Conjugate in a separate glass or polypropylene vial. DISCARD UNUSED DILUTED ANTIGEN.

3 Cover plate and incubate 1 hour at 37 ± 1 °C.

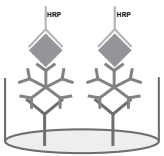


3 Incubate 1 hour at 20 - 25 °C.



4 Wash the assay plate x 6. After gentle rotation to mix the antigen-MAb conjugate solution, transfer 100 µL per well to the assay plate.

5 Cover plate and incubate 1 hour at 37 ± 1 °C.



6 Wash the assay plate x 6. After the final wash, add 100 µL TMB per well and incubate at 20 - 25 °C for 10 minutes. Stop the reaction with 100 µL Stop Solution and read at 450 nm (Reference 600 - 650 nm).

ENGLISH

INDICATION

Le kit Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA est destiné à la détection qualitative des anticorps IgM dirigés contre l'antigène de la dengue dans le sérum et contribue au diagnostic clinique en laboratoire des patients présentant des symptômes cliniques correspondants à ceux de la dengue. Ce test doit être utilisé en association avec d'autres tests sérologiques de la dengue.

INTRODUCTION

La dengue est un flavivirus présent dans de vastes régions tropicales et subtropicales. Elle est transmise par les moustiques du genre Aedes aegypti et Aedes albopictus. L'infection par le virus de la dengue entraîne un large éventail de manifestations cliniques allant de l'absence de symptômes à la maladie hémorragique létale. La dengue classique, également appelée « grippe tropicale », « fièvre rouge » ou « petit palu », se caractérise par une poussée de fièvre soudaine, accompagnée de céphalées intenses, de myalgies, d'arthralgies et d'une éruption cutanée. L'évolution biphasique de la fièvre est tout aussi fréquente que l'insomnie et l'anorexie qui s'accompagne d'une agueusie ou d'une amertume. La fièvre dengue hémorragique et la dengue avec syndrome de choc constituent des complications graves, souvent associées à une infection par un second sérotype. La détection des anticorps IgM dirigés contre le virus de la dengue par le test ELISA est une procédure utile, surtout en cas d'infection secondaire ou consécutive qui s'accompagne d'un risque de complication plus élevé. Les anticorps IgM présents dans le sérum peuvent être détectés très tôt chez les patients atteints de la dengue, de trois à cinq jours après l'apparition de la fièvre. Ils persistent généralement 30 à 90 jours, bien qu'ils puissent conserver des niveaux détectables huit mois après l'infection.

PRINCIPE

Lorsqu'ils sont présents, les anticorps sériques de classe IgM se lient aux anticorps IgM anti-humains fixés à la surface en polystyrène des bandelettes de test des micropuits. Un pool concentré d'antigènes de la dengue des sérogroupes 1 à 4 est dilué avec un diluant d'antigène jusqu'à obtention du volume de travail approprié. Les antigènes sont générés à l'aide d'un système d'expression de cellules d'insectes ; ils sont ensuite immunopurifiés à l'aide d'un anticorps monoclonal spécifique. Un volume égal d'anticorps monoclonal (AcM) conjugués à de la HRP est ajouté à l'antigène dilué, ce qui permet la formation de complexes antigènes-anticorps monoclonaux. Le serum résiduel est éliminé de la plaque d'analyse par lavage, puis le complexe antigène-anticorps monoclonal est ajouté à la plaque d'analyse. Après incubation, les micropuits sont lavés et un substrat incolore, composé de tétraméthylbenzidine/peroxyde d'hydrogène (chromogène TMB), est ajouté. Le substrat est hydrolysé par l'enzyme et le chromogène devient bleu. Une fois la réaction stoppée par l'acide, le chromogène TMB devient jaune. Le changement de couleur indique la présence des anticorps IgM anti-dengue dans l'échantillon testé.

MATÉRIEL FOURNI

Remarque : 01PE21 = 01PE20 x 5

1. Micropuits recouverts d'anticorps - (12 x 8 puits) Les micropuits sont recouverts d'anticorps IgM anti-humains. Prêts à l'emploi. Les micropuits inutilisés doivent être immédiatement rescellés et conservés avec l'agent déshydratant. Stable entre 2 et 8°C jusqu'à la date de péremption.
2. Antigènes de la dengue des sérogroupes 1 à 4 (recombinants) - Un flacon à bouchon **transparent**, 150 µl (**bleu**) d'antigènes viraux concentrés 1, 2, 3 et 4 de la dengue avec conservateur

(Proclin™ 300 et sulfate de gentamicine). L'antigène dilué inutilisé doit être mis au rebut. L'antigène concentré est stable entre 2 et 8 ºC jusqu'à sa date d'expiration. ⚠

3. Tampon de lavage (20x) - Un flacon de 60 ml de tampon phosphate salin concentré 20x contenant du Tween 20 et un conservateur (Proclin™ 300). Une cristallisation peut se produire à basse température. Pour corriger cet effet, incuber à 37ºC jusqu'à éclaircissement de la solution. Bien mélanger. Diluer un volume de tampon de lavage avec 19 volumes d'eau distillée. Le tampon dilué peut être conservé pendant une semaine à une température comprise entre 2 et 25ºC. ⚠
4. Diluant d'échantillon - Deux flacons de 50 ml (**rose**). Prêt à l'emploi. Solution saline tamponnée au Tris avec conservateurs (Proclin™ 300) et additifs. Stable entre 2 et 8ºC jusqu'à la date de péremption. ⚠
5. Diluant d'antigène – Un flacon de 50 ml (**transparent**). Prêt à l'emploi. Solution tampon de phosphate contenant des conservateurs (Proclin™ 300 et sulfate de gentamicine). Stable entre 2 et 8ºC jusqu'à la date de péremption. ⚠
6. D'anticorps monoclonaux conjugués à la HRP - Un flacon de 7 ml (**jaune**). Prêt à l'emploi. D'anticorps 6B6C-1 monoclonaux conjugués à la peroxydase de raifort avec conservateur (Proclin™ 300) et diluant conjugués. Stable entre 2 et 8ºC jusqu'à la date de péremption. ⚠
7. Chromogène TMB (TMB) – Un flacon de 15 ml. Prêt à l'emploi. TMB actif. Stable entre 2 et 8ºC jusqu'à la date de péremption.
8. Contrôle positif - Un flacon à bouchon **noir**, 200 µl de sérum humain positif au virus inactivé de la dengue (contient de l'azoture de sodium et du sulfate de gentamicine). Stable entre 2 et 8ºC jusqu'à la date de péremption.
9. Étalon – Un flacon avec bouchon **orange**, contenant 400 µl de sérum humain positif au virus inactivé de la dengue (contient de l'azoture de sodium et du sulfate de gentamicine). Stable entre 2 et 8ºC jusqu'à la date de péremption.
10. Contrôle négatif - Un flacon à bouchon **blanc**, 200 µl de sérum humain négatif au virus inactivé de la dengue (contient de l'azoture de sodium et du sulfate de gentamicine). Stable entre 2 et 8ºC jusqu'à la date de péremption.
11. Solution d'arrêt - Un flacon avec bouchon **rouge** de 15 ml. Prête à l'emploi. Acide phosphorique 1 M. Stable entre 2 et 25ºC jusqu'à la date de péremption.

Proclin™ 300 est une marque déposée de Rohm and Haas Company.

* Classification conformément au règlement (CE) N° 1272/2008:

Identification du produit	**Nom commercial**	Antigènes de la dengue des sérogroupes 1 à 4, Tampon de lavage, Diluant d'échantillon, Diluant d'antigène , Conjugués à la HRP
	Substance dangereuse	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4- isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H -isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)
Classification		Corrosion/irritation de la peau Catégorie2 Irritation/dommages sérieux aux yeux Catégorie2 Sensibilisation de la peau Catégorie1
Pictogramme de danger		

FRENCH

Mention d'avertissement	Attention
Mention de danger	H315: Provoque une irritation cutanée H317: Peut provoquer une allergie cutanée H319: Provoque une sévère irritation des yeux
Conseils de prudence	
Prévention	P261: Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/ vapeurs/ aérosols P264: Se laver les mains soigneusement les mains après manipulation P272: Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail P280: Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/ du visage
Réponse	P302+P352: EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon P305+P351+P338: EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer P321: Traitement spécifique P332+P313: En cas d'irritation cutanée: Consulter un médecin P333+P313: En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: Consulter un médecin P337+P313: Si l'irritation oculaire persiste : Consulter un médecin P362: Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation P363: Laver les vêtements contaminés avant réutilisation
Élimination	P501: Éliminer le contenu/récipient conformément à la règlementation locale/régionale/nationale/internationale

FRENCH

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Micropipettes réglables de précision avec embouts jetables (capacité de 5 à 1 000 µl)
2. Eau déionisée
3. Système de lavage de microplaque
4. Lecteur de microplaque avec filtre de 450 nm
5. Minuteur
6. Cylindre gradué
7. Flacon
8. Tubes à essai ou plaque de microtitration pour les dilutions de sérum
9. Tubes ou flacons en verre ou en plastique pour la dilution des antigènes

AVERTISSEMENTS

1. Pour usage diagnostique *in vitro*.
2. Toutes les matières d'origine humaine utilisées dans la préparation des contrôles ont été soumises au dépistage des anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine 1 et 2 (VIH 1 et 2), de l'hépatite C (VHC) ainsi que l'antigène de surface de l'hépatite B. Tous les résultats se sont révélés négatifs. Néanmoins, aucune méthode de test n'est véritablement fiable à 100 % ; aussi tous les antigènes et contrôles humains doivent être considérés comme des produits potentiellement infectieux. Aux États-Unis, les Centres de contrôle et de prévention des maladies et les Instituts nationaux de la santé recommandent de manipuler les agents potentiellement infectieux en appliquant les mesures de

biosécurité de niveau 2[1].

3. L'analyse doit être effectuée sur du sérum uniquement. L'utilisation de sang total, de plasma ou d'une autre matrice d'échantillon n'a pas été testée.
4. Ne pas utiliser de sérum ictérique, lipémique, hémolysé ou présentant une prolifération microbienne.
5. Ne pas inactiver le sérum à la chaleur.
6. Tous les réactifs doivent être stabilisés à température ambiante (20 à 25°C) avant le début du test. Les variations de température affectent le test. Ne pas retirer les micropuits de leur pochette fermée avant qu'ils aient atteint la température ambiante (20 à 25°C).
7. Distribuer les réactifs en les prélevant directement dans les flacons à l'aide d'embouts de pipette propres. Le transfert des réactifs peut entraîner une contamination.
8. Les micropuits inutilisés doivent être immédiatement rescellés et conservés avec un agent déshydratant. Le non-respect de cette consigne peut fausser les résultats.
9. Substrat :
   (a) Le chromogène TMB pouvant être contaminé par les ions métalliques, ne pas mettre le substrat en contact avec des surfaces métalliques.
   (b) Éviter toute exposition prolongée à la lumière directe.
   (c) Certains détergents peuvent altérer les performances du TMB.
   (d) Le TMB peut être de couleur bleu pâle. Cette coloration n'affecte pas l'activité du substrat, ni les résultats du test.



10. Certains composants du kit contiennent de l'azoture de sodium qui peut réagir avec les canalisations en cuivre ou en plomb pour former des composés d'azotures métalliques hautement explosifs. Lors de la mise au rebut de ces réactifs dans les éviers, rincer abondamment à l'eau afin d'éviter toute accumulation d'azoture dans les canalisations.
11. L'azoture de sodium inhibe l'activité du conjugué. Utiliser des embouts de pipette propres pour ajouter du conjugué afin d'éviter toute contamination par l'azoture de sodium présent dans d'autres réactifs.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Laisser le sang obtenu par ponction veineuse coaguler à température ambiante (20 à 25°C). Le centrifuger ensuite selon la procédure édictée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI – Approved Standard - Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens par Venipuncture, H3).

Le sérum doit être séparé dès que possible et réfrigéré (entre 2 et 8°C) ou congelé (≤ -20°C) s'il n'est pas analysé dans les deux jours. Les congélateurs à dégivrage automatique sont déconseillés pour la conservation. L'utilisation de sérum ictérique, hémolysé, lipémique ou présentant une prolifération microbienne est déconseillée. Le CLSI a émis des recommandations pour la conservation des échantillons sanguins (Approved Standard - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

PROCÉDURE DU TEST

Remarque: **s'assurer que tous les réactifs sont stabilisés à température ambiante (entre 20 et 25°C) avant de commencer le test.** Tout test réalisé en dehors des plages limites de temps et de température peut donner lieu à des résultats non valides. Les tests réalisés en dehors des plages limites de temps et de température doivent être recommencés.

Prédilution du sérum

1. Extraire le nombre requis de micropuits du sachet en aluminium et les insérer dans le support de bandelettes. Cinq micropuits sont nécessaires pour le contrôle négatif (N), le contrôle positif (P) et l'étalon (CAL) en trois exemplaires. Veiller à ce que le sachet en aluminium contenant les micropuits inutilisés soit bien refermé.
2. Dans des tubes à essai (ou une plaque de microtitration) appropriés, diluer le contrôle négatif, le contrôle positif, l'étalon et les échantillons patients :
   (a) Pour 10 µl de sérum, ajouter 990 µl de diluant d'échantillon. Bien mélanger.

   Autre méthode :

   (b) Pour 10 µl de sérum, ajouter 90 µl de diluant d'échantillon. Prélever 20 µl du sérum dilué et ajouter 180 µl de diluant d'échantillon. Bien mélanger.

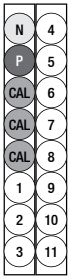
PROCÉDURE ELISA

Voir l'illustration ci-jointe pour connaître la méthode.

(A) Antigène

1. Déterminer le nombre de puits nécessaire pour le test. Diluer l'antigène à 1/250 avec du diluant d'antigène. La procédure recommande de diluer au moins 10 µl d'antigène dans 2,5 ml de diluant d'antigène. Cette quantité est suffisante pour cinq bandelettes (40 puits). Un volume de 0,5 ml d'antigène dilué est requis pour chaque bandelette. Une fois l'antigène ajouté au diluant d'antigène, la solution vire au bleu pâle. Veiller à ce que l'antigène concentré inutilisé reste à une température comprise entre 2 et 8°C.
2. Prélever le volume requis d'antigène dilué et mélanger à un volume équivalent de traceur d'anticorps monoclonaux, dans un flacon propre en verre ou en polypropylène. Mélanger doucement la solution de traceur d'anticorps monoclonaux-antigène et laisser reposer à température ambiante (20 à 25 °C) le temps nécessaire. Mettre au rebut l'antigène dilué inutilisé.

(B) Plaque d'analyse



1. Dans les 10 minutes suivant le mélange du traceur d'anticorps monoclonaux avec l'antigène dilué, Ajouter 100 µl d'échantillon patient dilué ainsi que les contrôles dans leurs micropuits respectifs de la plaque de dosage.
2. Couvrir la plaque et incuber pendant 1 heure à 37 ±1°C.
3. Laver à six (6) reprises avec le tampon de lavage dilué (se reporter à la procédure de lavage).
4. Mélanger la solution de traceur d'anticorps monoclonaux-antigène avant de procéder au transfert. Transférer 100 µl de complexe antigène-anticorps monoclonaux du flacon d'antigène dans les puits correspondants de la plaque d'analyse.
5. Couvrir la plaque et incuber pendant 1 heure à 37 ±1°C.
6. Laver à six (6) reprises avec le tampon de lavage dilué (se reporter à la procédure de lavage).
7. Ajouter 100 µl de TMB dans chaque puits.
8. Incuber pendant 10 minutes à température ambiante (20 à 25°C), à compter du premier ajout. Une couleur bleue se développe.
9. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans tous les puits en respectant le même ordre et les mêmes délais que pour l'ajout du TMB. Bien mélanger. La couleur passe du bleu au jaune.
10. Dans les 30 minutes qui suivent, mesurer le niveau d'absorbance de chaque puits à une longueur d'onde de 450 nm, avec un filtre de référence de 600-650 nm.

Remarque: si un spectrophotomètre à double longueur d'onde est disponible, régler le filtre de référence entre 600 et 650 nm. Toute mesure effectuée sur les micropuits à 450 nm sans filtre de référence risque de générer des valeurs d'absorbance élevées en raison du bruit de fond.

PROCÉDURE DE LAVAGE

La procédure ELISA requiert un lavage efficace afin d'éliminer tout échantillon ou composant nu.

A. Laveur de plaques automatique

(1) Aspirer la totalité du contenu de tous les puits.

(2) Remplir tous les puits jusqu'à la limite (350 µl) au cours du cycle de lavage.

(3) Une fois les six (6) lavages effectués, retourner la plaque et la tapoter fermement sur du papier absorbant afin d'éliminer toute trace du tampon de lavage.

(4) Les laveurs de plaques automatiques doivent être bien entretenus afin de garantir un lavage efficace. Les instructions de nettoyage du fabricant doivent être systématiquement respectées.

B. Lavage manuel

(1) Mettre au rebut le contenu de la plaque dans le conteneur de déchets approprié.

(2) Remplir les puits de tampon de lavage à l'aide d'une pissette. Éviter toute formation de bulles au niveau du tampon de lavage, au risque de compromettre l'efficacité du lavage. Mettre immédiatement au rebut le tampon de lavage utilisé dans les puits.

(3) Remplir une nouvelle fois les puits avec le tampon de lavage, puis les vider immédiatement.

(4) Répéter l'étape (3) à quatre autres reprises. Au total, les puits auront été lavés six (6) fois avec le tampon de lavage.
(5) Après le dernier lavage, mettre le contenu des puits au rebut et tapoter la plaque sur du papier absorbant afin d'éliminer toute trace du tampon de lavage.

CONTRÔLE QUALITÉ INTERNE

Chaque kit contient un étalon, ainsi que des contrôles positif et négatif. Les valeurs acceptables pour chacun d'eux sont indiquées sur la fiche technique fournie. Les contrôles négatif et positif visent à surveiller toute défaillance importante au niveau du réactif. Le contrôle positif ne garantit pas la précision à la valeur seuil du test. Le test n'est pas valide et doit être répété si les mesures d'absorbance des contrôles ou de l'étalon ne correspondent pas aux spécifications. Si le test n'est pas valide, les résultats du patient ne peuvent pas faire l'objet d'un compte-rendu.
La procédure de contrôle qualité (CQ) doit être appliquée conformément à la réglementation locale, nationale ou internationale en vigueur, et/ou aux conditions d'agrément et aux procédures de CQ en vigueur dans le laboratoire de l'utilisateur.
L'utilisateur doit consulter les normes CLSI C24-A et 42 CFR 493.1256 pour obtenir des conseils sur les pratiques adéquates en matière de contrôle qualité.

CALCULS

REMARQUE IMPORTANTE : le facteur d'étalonnage est spécifique au lot ; il est détaillé dans la fiche technique. Se munir de la valeur de facteur d'étalonnage avant de commencer les calculs.

1. Calculer l'absorbance moyenne des trois exemplaires d'étalon et multiplier le résultat par le facteur d'étalonnage. La valeur obtenue correspond à la valeur seuil.
2. Pour obtenir la valeur d'index, diviser l'absorbance de l'échantillon par la valeur seuil (calculée à l'étape (1) ci-dessus).

Sinon,

3. Pour calculer les unités Panbio™, multiplier la valeur d'index (calculée à l'étape (2) ci-dessus) par 10.

Valeur d'index = $\frac{\text{absorbance de l'échantillon}}{\text{Valeur seuil}}$

Exemple: Absorbance de l'échantillon A = 0,949
Absorbance de l'échantillon B = 0,070

Absorbance moyenne de l'étalon = 0,802
Facteur d'étalonnage = 0,62
Valeur seuil = 0,802 x 0,62 = 0,497

Échantillon A (0,949/0,497) = valeur d'index de 1,91
Échantillon B (0,070/0,497) = valeur d'index de 0,14

Unités Panbio™ = valeur d'index x 10

Échantillon A 1.91 X 10 = 19.1 unités Panbio™
Échantillon B 0.14 X 10 = 1.4 unités Panbio™

INTERPRÉTATION DU TEST

La valeur seuil a été déterminée grâce à l'étude de 208 échantillons

négatifs (208/409), 91 échantillons positifs (91/409) et 110 échantillons de contrôle de la maladie (110/409) prélevés sur des populations endémiques issues d'Asie du Sud-est/d'Amérique du Sud et sur une population du Queensland, en Australie. Cette valeur seuil a été établie grâce à l'analyse TG-ROC[2,3]. Un ratio de valeur seuil de 1,0 a été sélectionné en fonction de la valeur F optimale pour la sensibilité et la spécificité.

Diagnostic d'infection causée par le virus de la dengue : le test Dengue IgM Capture ELISA détermine le niveau d'anticorps IgM dirigés contre la dengue dans le sérum d'un patient. Un résultat positif (> 11 unités Panbio™) indique une infection primaire ou secondaire active par le virus de la dengue. Si une différenciation entre l'infection primaire et l'infection secondaire est nécessaire, le test Dengue Duo ELISA (07PE10) doit être utilisé.

INDEX	UNITÉS Panbio™	RÉSULTAT
<0,9	<9	Négatif
0,9 – 1,1	9 – 11	Équivoque
>1,1	>11	Positif

RÉSULTAT	INTERPRÉTATION
Négatif	Absence d'anticorps IgM détectables. Le résultat ne permet pas d'éliminer l'infection par la dengue. Un autre échantillon doit être analysé dans les 7 à 14 jours qui suivent en cas de suspicion d'infection précoce. D'autres tests de la dengue doivent être réalisés afin d'éliminer une infection aiguë.
Équivoque	Les échantillons équivoques doivent être réanalysés. Les échantillons qui demeurent équivoques après répétition du test doivent être de nouveau testés à l'aide d'une méthode différente, ou de nouveaux échantillons doivent être prélevés.
Positif	Présence d'anticorps IgM détectables. D'autres tests sérologiques de la dengue doivent être effectués pour confirmer l'infection par le virus de la dengue.

La formulation suivante est recommandée pour présenter les résultats obtenus : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le kit Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Ces valeurs ne sont pas interchangeables avec celles obtenues par d'autres méthodes. L'amplitude du résultat mesuré au-delà de la valeur seuil n'est pas représentative de la quantité totale d'anticorps présente. » Le résultat doit être rapporté comme étant positif, négatif ou équivoque et non pas sous la forme de valeur numérique.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

1. Le diagnostic clinique doit être établi sur la base des symptômes et signes cliniques présentés par le patient. Les résultats de ce kit ne constituent pas un diagnostic en soi et doivent être interprétés conjointement à d'autres données cliniques et aux symptômes présentés par le patient.
2. La séroépidémiologie de la population peut évoluer avec le temps selon les régions géographiques. Il peut donc s'avérer

nécessaire d'ajuster la valeur seuil en fonction des études locales.

3. Aucun dépistage ne doit être effectué sur la population générale. La valeur prédictive positive dépend de la probabilité de la présence du virus. Des tests doivent être réalisés uniquement chez les patients présentant des symptômes cliniques correspondant au virus ou dans le cas où une exposition au virus serait suspectée.
4. Les réactions sérologiques croisées sont fréquentes dans le groupe des flavivirus (c'est-à-dire entre les virus de sérotypes 1, 2, 3 et 4 de la dengue, de l'encéphalite de Murray Valley, de l'encéphalite japonaise, du virus de la fièvre jaune ou du virus du Nil occidental). Ces maladies doivent donc être exclues avant toute confirmation du diagnostic.
5. Les anticorps hétérophiles constituent une cause bien connue de perturbations des dosages immunologiques4. Ces anticorps anti-IgG animaux peuvent présenter une réaction croisée avec les anticorps des réactifs et générer un faux-positif. Cette éventualité doit être exclue avant toute confirmation du diagnostic.
6. Les caractéristiques de performance n'ont pas été établies pour la détermination visuelle des résultats.
7. Ce test utilise les protéines exprimées par les insectes. La réaction croisée ou les interférences générées par les anticorps humains anti-insectes sur les résultats du test restent encore inconnues à ce jour.
8. Tous les sérums présentant un résultat positif avec le test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA doivent être envoyés à un laboratoire de référence pour confirmation de la présence du virus et enregistrement épidémiologique.
9. Les tests Panbio™ Dengue Duo ELISA (07PE10) et Panbio™ Dengue IgG Capture ELISA (01PE10) sont optimaux pour identifier la présence d'anticorps IgG. Ils utilisent tous les deux la même méthode de capture que le test ELISA de capture des IgM, de sorte que la présence d'IgM et d'IgG est déterminée à l'aide d'une seule technique et d'une seule dilution de sérum.

VALEURS ATTENDUES

Une infection primaire par le virus de la dengue se caractérise par la présence de taux élevés ou croissants d'IgM 3 à 5 jours après l'apparition de l'infection, lesquels peuvent persister pendant 3 à 5 mois. Une infection secondaire se caractérise par l'augmentation des IgG spécifiques 1 à 2 jours après l'apparition de l'infection, et dans la majorité des cas (> 70 %), elle s'accompagne d'une augmentation des IgM. Dans le cadre des infections précoces et de certaines infections secondaires, les taux détectables d'anticorps IgM peuvent être faibles. Chez certains patients, il peut arriver qu'aucun niveau détectable d'anticorps ne soit produit au cours des sept à dix premiers jours après l'infection. Nous conseillons de réaliser un nouveau test pour les patients dont les symptômes persistent sept jours après le test réalisé sur le premier échantillon.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Au total, 255 échantillons caractérisés de sérum ont été testés à l'aide du test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA dans le cadre d'une étude interne. Les sérums incluaient 83 échantillons séronégatifs endémiques, 57 échantillons provenant de patients atteints de l'infection primaire de la dengue et 115 échantillons issus de patients atteints de l'infection secondaire de la dengue. Les résultats du test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA ont été comparés à l'état du sérum de la dengue, afin de déterminer la sensibilité, la spécificité et l'équivalence du dosage par

rapport à l'état sérologique de la dengue. Les données sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1
Comparaison de la sensibilité et de la spécificité sérologiques du test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA par rapport à l'état de la dengue

	ELISA Panbio™			
État de la dengue	**Positif**	**Équivoque[a]**	**Négatif**	**Total**
IgM (-) **séronégatif** par test ELISA	0	0	83	83
IgM (+) **en cas d'infection primaire** par test IHA	41	1	1	43
IgM (+) **en cas d'infection primaire** par test ELISA	13	0	1	14
IgG (+) **en cas d'infection secondaire** par test IHA	41	11	34	86
IgG (+) **en cas d'infection secondaire** par test ELISA	23	0	6	29
Total	**118**	**12**	**125**	**255**

			95% IC*
Sensibilité sérologique (primaire)	= 54/57	= 94,7%	85,4 – 98,9%
Sensibilité sérologique (secondaire)	= 64/115	= 55,7%	46,6 – 64,7%
Spécificité sérologique (négatif)	= 83/83	= 100,0%	95,7 – 100,0%
Concordance sérologique (sauf sérums secondaires)	= 137/140	= 97,9%	93,7 – 99,6%

[a] Aucun test supplémentaire des échantillons équivoques n'a été réalisé car ceux-ci n'étaient pas disponibles.

* Intervalle de confiance

REPRODUCTIBILITÉ

La reproductibilité du kit de test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA a été déterminée en analysant 7 sérums trois fois chacun, avec trois numéros de lots Panbio™ et sur trois jours différents. La précision intra-série, inter-jours, inter-lots ainsi que la précision totale ont été évaluées par analyse de variance (ANOVA type II) et sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2
Mesures de la précision du test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA
(à l'aide de la valeur d'index*)

			Intra-série		Inter-jours		Inter-lots		Total	
Échantillon	**n**	***Moyenne**	***É.T.**	**CV**	***É.T.**	**CV**	***É.T.**	**CV**	***É.T.**	**CV**
Positif	27	2,87	0,12	4,3%	0,05	1,7%	0,62	21,6%	0,53	18,6%
Valeur seuil	27	1,00	0,06	5,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,05	5,3%
Négatif	27	0,36	0,06	16,7%	0,00	0,0%	0,16	45,2%	0,15	41,0%
#1	27	6,19	0,31	5,1%	0,12	1,9%	0,41	6,7%	0,48	7,7%
#2	27	5,91	0,21	3,6%	0,11	1,9%	0,52	8,8%	0,49	8,3%
#3	27	1,25	0,05	4,1%	0,00	0,0%	0,10	7,9%	0,10	7,7%
#4	27	1,33	0,07	5,4%	0,03	1,9%	0,07	5,4%	0,10	7,2%
#5	27	1,30	0,08	6,1%	0,00	0,0%	0,12	9,3%	0,13	9,8%
#6	27	0,71	0,04	6,0%	0,00	0,0%	0,01	1,7%	0,04	6,0%
#7	27	0,81	0,06	7,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,06	7,3%

Toutes les valeurs sont calculées à partir de la valeur d'index (valeur seuil déterminée à l'aide de la DO).
É.T. = écart-type ; CV = coefficient de variation

Remarque: les résultats de l'écart-type ont été arrondis à deux décimales pour la constitution du tableau.

* La valeur d'index est calculée en divisant la valeur d'absorbance de l'échantillon par la valeur seuil.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

Un panel de 115 échantillons provenant de patients atteints de maladies confirmées autres que la dengue a été testé afin d'établir la spécificité analytique du test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Ces échantillons ont été prélevés sur des patients atteints de maladies pouvant produire une réaction croisée. Chacun des échantillons inclus dans l'étude a été caractérisé en fonction du diagnostic pathologique avant de procéder à l'analyse avec le test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Une réaction croisée minime a été observée pour les échantillons de paludisme, de virus du Nil occidental et du facteur rhumatoïde dans le panel de maladies. Consulter le tableau 3 pour connaître les résultats.

Tableau 3
Test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA – Analyse de la réactivité croisée

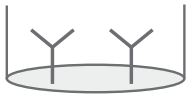
Type de maladie	Total des échantillons	Résultat positif
Virus d'Epstein-Barr	10	(0/10)
Paludisme	10	(1/10)
Grippe A	7	(0/7)
Grippe B	3	(0/3)
Anticorps antinucléaire	30	(0/30)
Facteur rhumatoïde	10	(3/10)
Hépatite A	9	(0/9)
Leptospira	7	(0/7)
Salmonella typhi	9	(0/9)
Fièvre fluviale du Japon	10	(0/10)
Virus du Nil occidental	10	(2/10)
Total	**115**	**(6/115)**

Clause de non-responsabilité :
Bien que toutes les précautions aient été prises pour garantir les performances diagnostiques et la précision de ce produit, il est utilisé en dehors du contrôle du fabricant et du distributeur. Les résultats peuvent donc être influencés par des facteurs environnementaux et/ou une erreur d'utilisation. Il est fortement recommandé au patient ayant reçu le diagnostic de consulter un médecin pour confirmer le résultat du test.

Avertissement :
Les fabricants et les distributeurs de ce produit ne peuvent, en aucune manière, être tenus responsables des pertes, dommages, reclamations ou coûts, quels qu'ils soient, directs, indirects ou consécutifs, dus ou liés à un diagnostic positif ou négatif erroné établi à l'aide de ce produit.

Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA 01PE20/01PE21

PLAQUE D'ANALYSE
IgM anti-humains



1 Ajouter 100 µl d'échantillons dilués et de contrôles dans la plaque d'analyse.

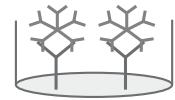
FLACON D'ANTIGÈNE
Antigènes de la dengue stabilisés



1 Ajouter 10 µl d'antigène dans 2,5 ml de diluant d'antigène et mélanger. L'antigène concentré inutilisé doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8°C.

2 Prélever le volume requis d'antigène dilué et mélanger à un volume équivalent de conjugués à la HRP d'anticorps monoclonaux, dans un flacon propre en verre ou en polypropylène. METTRE AU REBUT L'ANTIGÈNE DILUÉ INUTILISÉ.

3 Couvrir la plaque et incuber pendant 1 heure à 37 ±1 °C.

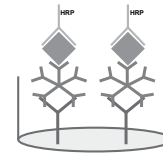


3 Incuber pendant 1 heure à une température comprise entre 20 et 25°C.



4 Laver la plaque d'analyse 6 fois. Après avoir imprimé une légère rotation afin de mélanger la solution conjugués d'anticorps monoclonal-antigène, transférer 100 µl par puits vers la plaque d'analyse.

5 Couvrir la plaque et incuber pendant 1 heure à 37 ±1 °C.



6 Laver la plaque d'analyse 6 fois. Après le dernier lavage, ajouter 100 µl de chromogène TMB par puits et incuber à une température comprise entre 20 et 25°C pendant 10 minutes. Interrompre la réaction avec 100 µl de solution d'arrêt et lire le résultat à une longueur d'onde de 450 nm (filtre de référence de 600-650 nm).

FRENCH

USO PREVISTO

El ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA se utiliza para la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra el antígeno del dengue en suero, como ayuda para el diagnóstico en laboratorios clínicos de pacientes con síntomas clínicos indicativos de fiebre del dengue. Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA debe utilizarse junto con otros análisis serológicos para el dengue.

INTRODUCCIÓN

El dengue es un flavivirus que se encuentra en regiones extensas de los trópicos y subtrópicos. Se transmite mediante mosquitos, principalmente los de las especies Aedes aegypti y Aedes albopictus. La infección por el virus del dengue provoca diversas manifestaciones clínicas, desde asintomáticas a una enfermedad hemorrágica letal. La fiebre del dengue clásica se caracteriza por la aparición súbita de fiebre, cefalea intensa, mialgia, artralgia y exantema. Es frecuente una evolución febril bifásica, así como insomnio y anorexia con pérdida del sentido del gusto o un sabor amargo. La fiebre hemorrágica del dengue y el síndrome de shock por dengue son complicaciones graves que a menudo se asocian a la infección por un segundo serotipo. La detección de anticuerpos IgG contra el virus del dengue mediante ELISA es un procedimiento valioso, especialmente para la identificación de sobreinfecciones, que presentan más complicaciones. Los anticuerpos IgM séricos pueden detectarse en pacientes infectados por el dengue entre los primeros tres y cinco días posteriores el comienzo de la fiebre, y generalmente persisten durante 30 a 90 días, aunque podría haber niveles detectables a los ocho meses de la infección.

PRINCIPIO

Cuando están presentes, los anticuerpos en suero de la clase IgG se unen a los anticuerpos anti-IgM humana ligados a la superficie de poliestireno de las tiras de prueba de los micropocillos. Se diluye un grupo concentrado de antígenos 1 a 4 del dengue en el volumen de trabajo adecuado con diluyente para antígeno. Los antígenos se producen usando un sistema de expresión en células de insecto y se inmunopurifican mediante un anticuerpo monoclonal específico. Se agrega un volumen igual de anticuerpo monoclonal (MAb) conjugado con HRP al antígeno diluido, lo que permite la formación de complejos de antígeno-MAb. La placa de la prueba se lava para retirar el suero residual y se agregan complejos de antígeno-MAb a la placa. Después del período de incubación, los micropocillos se lavan y se agrega un sistema de sustrato incoloro de tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno (cromógeno de TMB). La enzima hidroliza el sustrato y el cromógeno se vuelve de color azul. Después de detener la reacción con ácido, la TMB se vuelve de color amarillo. Los cambios de color indican la presencia de anticuerpos IgM contra el dengue en la muestra de la prueba.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Nota: 01PE21 = 01PE20 x 5

1. Micropocillos recubiertos de anticuerpos : (12 x 8 pocillos) Los pocillos están recubiertos de anticuerpos anti-IgM humana. Listo para usar. Los micropocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de secante. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
2. Antígenos 1 a 4 del dengue (recombinantes): Un vial con tapa **transparente** de 150 µl (**azul**) con concentrado de antígenos de denge 1, 2, 3 y 4 y conservante (Proclin™ 300 y sulfato de

gentamicina). Los antígenos diluidos sin usar deben desecharse. El antígeno concentrado es estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad. ⚠

3. Tampón de lavado (20x): un frasco de 60 ml de solución salina tamponada con fosfato concentrada 20x con Tween 20 y conservante (Proclin™ 300). A temperaturas bajas puede producirse cristalización. Para corregirla, incube a una temperatura de 37 °C hasta que desaparezca. Mezcle bien. Diluya una parte del tampón de lavado concentrado con 19 partes de agua destilada. El tampón diluido puede almacenarse durante una semana entre 2 y 25 °C. ⚠
4. Diluyente para muestra: dos frascos de 50 ml (**rosa**). Listo para usar. Solución salina tamponada con Tris con conservantes (Proclin™ 300) y aditivos. Estable entre 2 y 8°C hasta su caducidad. ⚠
5. Diluyente para antígeno: un frasco de 50 ml (**transparente**). Listo para usar. Tampón fosfato con conservantes (Proclin™ 300 y sulfato de gentamicina). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad. ⚠
6. Anticuerpos monoclonales conjugados con HRP: un frasco de 7 ml (**amarillo**). Listo para usar. Anticuerpos 6B6C-1 monoclonales conjugados con peroxidasa de rábano con conservante (Proclin™ 300) y diluyente para conjugados. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad. ⚠
7. Cromógeno TMB (TMB): un frasco de 15 ml. Listo para usar. TMB en funcionamiento. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
8. Control positivo: Un vial con tapa **negro** de 200 µl con suero humano positivo en virus del dengue inactivo (contiene azida sódica y suflato de gentamicina). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
9. Calibrador: Un vial con tapa **naranja** de 400 µl con suero humano positivo en virus del dengue inactivo (contiene azida sódica y suflato de gentamicina). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
10. Control negativo: Un vial con tapa **blanco** de 200 µl con suero humano negativo en virus del dengue inactivo (contiene azida sódica y sulfato de gentamicina). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
11. Solución de parada: un frasco con tapón **rojo** de 15 ml. Listo para usar. Ácido fosfórico 1M. Estable entre 2 y 25 °C hasta su caducidad.

Proclin™ 300 es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

* Clasificación según la normativa (CE) n.º 1272/2008:

Identificador del producto	**Nombre comercial**	Antígenos 1 a 4 del dengue, Tampón de lavado, Diluyente para muestra, Diluyente para antígeno, Conjugados con HRP
	Sustancia peligrosa	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4- isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H -isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)
Clasificación		Corrosión o irritación cutáneas Categoría2 Lesiones o irritación ocular graves Categoría2 Sensibilización cutánea Categoría1
Pictograma de riesgo		
Palabra de advertencia		Atención

Indicación de peligro	H315: Provoca irritación cutánea H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel H319: Provoca irritación ocular grave
Consejos de prudencia	
Prevención	P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P264: Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación P272: Las prendas de trabajo contaminadas no deben sacarse del lugar de trabajo P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
Respuesta	P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P321: Se necesita un tratamiento específico P332+P313: En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico P337+P313: Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico P362: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas
Eliminación	P501: Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local, regional, nacional o internacional

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Micropipetas de precisión ajustables con puntas de pipeta desechables (capacidad 5-1000 µl)
2. Agua desionizada
3. Sistema de lavado de microplacas
4. Lector de microplacas con un filtro de 450 nm
5. Cronómetro
6. Probeta graduada
7. Matraz
8. Tubos de ensayo o placa de microtitulación para las diluciones del suero
9. Tubos o viales de vidrio o plástico para diluir el antígeno

ADVERTENCIAS

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Todas las muestras de origen humano utilizadas en la preparación de los controles han dado resultados negativos en las pruebas para los virus 1 y 2 de la inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), el virus de la hepatitis C (VHC) y el antígeno de superficie de la hepatitis B. Sin embargo, ningún método ofrece una garantía completa, y todos los controles y antígenos humanos deben manipularse como material potencialmente infeccioso. Los Centers for Disease Control and Prevention y los National Institutes of Health recomiendan manipular los agentes potencialmente infecciosos en laboratorios de contención biológica de nivel 2[1].
3. Esta prueba solo debe realizarse con suero. No se ha establecido el uso de sangre completa, plasma u otras matrices de muestras.
4. No se deben utilizar sueros ictéricos o lipidémicos o sueros que presenten hemólisis o crecimiento microbiano.
5. No inactive los sueros con calor.
6. Todos los reactivos deben estar estabilizados a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) antes de comenzar el ensayo. Los cambios de temperatura afectan al ensayo. No saque los

micropocillos de la bolsa cerrada hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C).

7. Dispense los reactivos directamente de los frascos utilizando puntas de pipeta limpias. Al transferirlos pueden contaminarse.
8. Los micropocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de un secante. Si no se lleva a cabo este paso pueden obtenerse resultados erróneos.
9. Sistema de sustrato:
   (a) Dado que la TMB se puede contaminar con iones metálicos, no permita que el sistema de sustrato entre en contacto con superficies metálicas.
   (b) Evite una exposición prolongada a la luz directa.
   (c) Algunos detergentes pueden interferir con el rendimiento de la TMB.
   (d) La TMB puede presentar un tenue color azulado, lo que no afecta a la actividad del sustrato ni a los resultados del ensayo.



10 Algunos componentes del kit contienen acida sódica, que puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar compuestos de acidas metálicas altamente explosivos. Al desechar estos reactivos por las tuberías, hágalo vertiendo una gran cantidad de agua con el fin de evitar que la acida se acumule en las cañerías.

11. La acida sódica inhibe la actividad del conjugado. Para agregar el conjugado deben utilizarse puntas de pipeta limpias, de forma que no se transfiera acida sódica de otros reactivos.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

La sangre extraída por venopunción debe dejarse coagular a temperatura ambiente (entre 20 y 25°C) y centrifugarse siguiendo el procedimiento del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, Approved Standard - Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3).

El suero debe separarse lo antes posible y conservarse refrigerado (2 - 8°C) o congelado (≤ -20°C) si no se va a analizar en el plazo de dos días. No se recomienda usar congeladores con descongelación automática para almacenar las muestras. No se recomienda emplear sueros ictéricos o sueros que presenten hemólisis, lipidemia o crecimiento microbiano. El CLSI proporciona recomendaciones para almacenar las muestras de sangre (Approved Standard - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Nota: compruebe que todos los reactivos se han estabilizado a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de comenzar el ensayo. Si lleva a cabo el ensayo fuera de los intervalos de tiempo y temperatura proporcionados, se pueden obtener resultados incorrectos. Los ensayos que se realicen fuera de los intervalos de tiempo y temperatura establecidos deben repetirse.

Predilución del suero

1. Saque el número necesario de micropocillos de la bolsa de aluminio e insértelos en el soporte para tiras. Se necesitan cinco micropocillos para el control positivo (P), el control negativo

(N) y el calibrador (CAL) por triplicado. Asegúrese de que los micropocillos que no se utilicen se vuelven a guardar en la bolsa de aluminio sellada.

2. Usando tubos de ensayo o una placa de microtitulación adecuados, diluya el control negativo, el control positivo, el calibrador y las muestras del paciente:
   (a) Añada 990 µl de diluyente para muestra a 10 µl de suero. Mezcle bien.

   De manera alternativa:

   (b) Añada 90 µl de diluyente para muestra a 10 µl de suero. Tome 20 µl del suero diluido y añada 180 µl de diluyente para muestra. Mezcle bien.

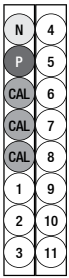
PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ELISA

La figura siguiente muestra un resumen del método.

(A) Antígeno

1. Determine el número necesario de pocillos para la prueba. Diluya el antígeno a 1/250 usando el diluyente para antígeno. Se recomienda diluir al menos 10 µl de antígeno en 2,5 ml de diluyente para antígeno. Esta cantidad es suficiente para cinco tiras (40 pocillos). Se necesita un volumen de 0,5 ml de antígeno diluido por tira. Al añadir el antígeno al diluyente para antígeno, la solución se vuelve de un color azul pálido. Asegúrese de que el antígeno concentrado sin usar esté a una temperatura de entre 2 y 8°C.
2. Retire el volumen necesario de antígeno diluido y mézclelo con un volumen igual de trazador de MAb en un frasco de cristal o en un vial de polipropileno limpio. Mezcle suavemente la solución de trazador de MAb y antígeno y déjela a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) hasta que haga falta. Deseche el antígeno diluido que no utilice.

(B) Placa de la prueba



1. Antes de que transcurran 10 minutos desde la mezcla del trazador de MAb y el antígeno diluido, pipetee 100 µl de muestra de paciente diluida y controles en sus respectivos micropocillos de la placa de la prueba.
2. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 ± 1°C.
3. Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido. (Consulte el procedimiento de lavado.)
4. Mezcle la solución de trazador de MAb y antígeno antes de transferirla. Pipetee 100 µl de complejos de antígeno-MAb del vial de antígeno a los pocillos correspondientes de la placa.
5. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 ±1 °C.
6. Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado).
7. Pipetee 100 µl de TMB en cada pocillo.
8. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C), cronometrando desde la primera adición. Se formará un color azul.
9. Pipetee 100 µl de la solución de parada en todos los pocillos en el mismo orden y tiempo que cuando se agregó la TMB. Mezcle bien. El color azul cambiará a amarillo.
10. Antes de 30 minutos, lea la absorbancia de cada pocillo a una longitud de onda de 450 nm con un filtro de referencia de entre 600 y 650 nm.

Nota: si dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fije el filtro de referencia entre 600-650 nm. Si lee los

ESPAÑOL

micropocillos a una longitud de onda de 450 nm sin un filtro de referencia, puede obtener valores de absorbancia más elevados debido al fondo.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Un lavado eficaz para eliminar los componentes o muestras sin acomplejar es un requisito fundamental del procedimiento del ensayo ELISA.

A. Dispositivo de lavado de placas automatizado

(1) Aspire completamente todos los pocillos.

(2) Llene todos los pocillos hasta el borde (350 µl) durante el ciclo de lavado.

(3) Al terminar los seis (6) lavados, invierta la placa y golpee firmemente sobre papel absorbente para garantizar que se elimina todo el tampón.

(4) Los dispositivos de lavado de placas automatizados deben mantenerse adecuadamente con el fin de garantizar la eficacia de los lavados. Deben seguirse siempre las instrucciones de limpieza del fabricante.

B. Lavado manual

(1) Deseche el contenido de la placa en un contenedor apropiado.

(2) Llene los pocillos con tampón de lavado utilizando una botella flexible adecuada. Procure que no se formen burbujas en el tampón de lavado, ya que esto reduciría la eficacia. Deseche el tampón de lavado de los pocillos inmediatamente.

(3) Vuelva a llenar los pocillos con tampón de lavado y deséchelo rápidamente.

(4) Repita el paso (3) otras cuatro veces. Esto da un total de seis (6) lavados con tampón de lavado.

(5) Después del último lavado, elimine el contenido de los pocillos y golpee la placa sobre papel absorbente para garantizar que se ha eliminado todo el tampón de lavado.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

Cada kit contiene un calibrador y controles positivos y negativos, cuyos valores aceptables se encuentran en la hoja de especificaciones que se incluye en el estuche. Los controles negativos y positivos están previstos para controlar un fallo sustancial del reactivo. El control positivo no asegura la precisión del punto de corte del ensayo. El análisis no es válido y se debe repetir si las lecturas de absorbancia de los controles o del calibrador no cumplen las especificaciones. Si el resultado del análisis no es válido, no se pueden presentar los resultados del paciente.

Los requisitos del control de calidad deben ajustarse a la normativa local o nacional (o a los requisitos de acreditación) y a los procedimientos de control de calidad normalizados de su laboratorio.

Se recomienda al usuario que consulte los documentos CLSI C24-A y 42 CFR 493.1256 para obtener información acerca de los procedimientos de control de calidad adecuados.

CÁLCULOS

NOTA IMPORTANTE: el factor de calibración es específico de cada lote y figura en la hoja de datos técnicos. Consulte el valor del factor de calibración antes de comenzar los cálculos.

1. Calcule la absorbancia promedio de los triplicados del calibrador y multiplique por el factor de calibración. Este es el valor del punto de corte.

2. El valor índice se puede calcular dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor del punto de corte (calculado en el paso (1) anterior).

De manera alternativa:

3. Las unidades Panbio™ se pueden calcular multiplicando el valor índice (calculado en el paso (2) anterior) por 10.

$$\textbf{Valor índice} = \frac{\textbf{absorbancia de la muestra}}{\textbf{Valor del punto de corte}}$$

Ejemplo: absorbancia de la muestra A = 0,949
Absorbancia de la muestra B = 0,070

Absorbancia media del calibrador = 0,802
Factor de calibración = 0,62
Valor del punto de corte = 0,802 x 0,62 = 0,497

Muestra A (0,949/0,497) = 1,91 de valor índice
Muestra B (0,070/0,497) = 0,14 de valor índice

Unidades Panbio™ = Valor índice X 10

Muestra A 1,91 X 10 = 19,1 unidades Panbio™
Muestra B 0,14 X 10 = 1,4 unidades Panbio™

INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El punto de corte se ha determinado utilizando poblaciones endémicas del Sureste Asiático y América del Sur, y una población local de Queensland, Australia, con 208 muestras caracterizadas como negativas (208/409), 91 como positivas (91/409) y 110 como controles de la enfermedad (110/409). El punto de corte se determinó mediante el análisis TG-ROC (two-graph receiver operating characteristic)[2,3]. Se seleccionó un cociente para el punto de corte de 1,0 basado en el valor F óptimo para la sensibilidad y la especificidad.

Diagnóstico de infección por dengue: el ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA determina el nivel de anticuerpos IgM contra el dengue en el suero de un paciente. Un resultado positivo (> 11 Unidades Panbio™) indica una primoinfección o infección secundaria activa por dengue. Si se necesita distinguir entre primoinfección e infección secundaria, se debe usar el ensayo Panbio™ Dengue Duo ELISA (07PE10).

ÍNDICE	UNIDADES Panbio™	RESULTADO
<0,9	<9	Negativo
0,9 – 1,1	9 – 11	Dudoso
>1,1	>11	Positivo

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
Negativo	Ausencia de anticuerpos IgM detectables. El resultado no descarta la infección por dengue. Repita el análisis con otra muestra en un plazo de 7 a 14 días si hay sospecha de infección en una fase temprana. Para descartar una infección aguda, deben realizarse otras pruebas del dengue.

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
Dudoso	Se debe repetir el análisis de las muestras dudosas. Si las muestras siguen dando un resultado dudoso al repetir el ensayo, es necesario volver a analizarlas utilizando un método alternativo o bien obtener otra muestra.
Positivo	Presencia de anticuerpos IgM detectables. Deben realizarse otras pruebas serológicas del dengue para confirmar la infección por dengue.

Forma recomendada de comunicar los resultados obtenidos: "Los siguientes resultados se obtuvieron con el ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Los valores obtenidos con métodos diferentes no pueden intercambiarse. La magnitud del resultado medido (por encima del valor del punto de corte) no indica la cantidad total de anticuerpos presente".
El resultado debe comunicarse como positivo, negativo o dudoso y no como un valor numérico.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El diagnóstico clínico debe interpretarse junto con los signos y síntomas clínicos del paciente. Los resultados de este kit no proporcionan por sí solos un diagnóstico concluyente. Por consiguiente, deben considerarse junto con otros síntomas y datos clínicos del paciente.
2. La seroepidemiología de la población puede variar a lo largo del tiempo en las diferentes regiones geográficas. Por consiguiente, puede ser necesario ajustar el punto de corte de acuerdo con los estudios locales.
3. No se debe llevar a cabo un estudio de cribado de la población general. El valor de predicción positivo depende de la probabilidad de que el virus esté presente. Solo debe hacerse la prueba a pacientes que presenten síntomas clínicos o cuando se sospeche que han estado expuestos al virus.
4. Es frecuente encontrar una reacción serológica cruzada dentro del grupo de los flavivirus (es decir, entre dengue 1, 2, 3 y 4, encefalitis del valle de Murray, encefalitis japonesa, fiebre amarilla y el virus del Nilo Occidental). Antes de confirmar el diagnóstico, deben descartarse estas enfermedades.
5. Es bien sabido que los anticuerpos heterófilos causan interferencias en los inmunoanálisis4. Estos anticuerpos contra IgG de origen animal pueden tener reactividad cruzada con los anticuerpos del reactivo y generar un falso positivo. Antes de confirmar el diagnóstico debe descartarse esta posibilidad.
6. No se han establecido las características de rendimiento para la determinación visual de los resultados.
7. En este ensayo se emplean proteínas expresadas en células de insecto. Se desconoce cuál es la reactividad cruzada o la interferencia de los anticuerpos humanos contra las inmunoglobulinas de insecto con los resultados del ensayo.
8. Todos los sueros que den positivo en el ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA deben remitirse a un laboratorio de referencia para confirmar el resultado positivo y para su registro epidemiológico.
9. El ensayo Panbio™ Dengue Duo ELISA (07PE10) y el ensayo Panbio™ Dengue IgG Capture ELISA (01PE10) son los

más convenientes para la determinación de IgG. Emplea el mismo método de captura que el ensayo ELISA de IgM, por lo que tanto los anticuerpos IgM como los anticuerpos IgG se determinan usando un método y una dilución sérica comunes.

VALORES PREVISTOS

La primoinfección por dengue se caracteriza por la presencia de niveles significativos o aumentados de IgM a los 3 o 5 días del comienzo de la enfermedad, que pueden mantenerse durante 3 a 5 meses. La infección secundaria se caracteriza por una elevación de los anticuerpos IgG específicos 1 o 2 días después del comienzo de la infección y, en la mayoría de los casos (> 70%) se acompaña de niveles elevados de anticuerpos IgM. En fases tempranas de la infección y en algunas sobreinfecciones, los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Algunos pacientes pueden no producir niveles detectables de anticuerpos en los primeros siete a diez días de la infección. Si los síntomas persisten, recomendamos repetir la prueba a los pacientes entre siete días después de la primera muestra.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Como parte de un estudio interno, se analizaron con el ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA 255 muestras de suero caracterizadas. Entre las muestras se incluían 83 muestras seronegativas endémicas, 57 muestras de pacientes con primoinfección por dengue y 115 muestras de pacientes con infección secundaria por dengue. Los resultados del ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA se compararon con el estado del dengue de las muestras séricas para determinar la sensibilidad, la especificidad y la coincidencia del ensayo respecto al estado serológico del dengue. La tabla 1 recoge un resumen de los datos.

Tabla 1
Sensibilidad y especificidad serológica del ensayo ELISA de IgM contra el dengue de Panbio™ frente al estado del dengue

	Ensayo ELISA de Panbio™			
Estado del dengue	**Positivo**	**Dudoso[a]**	**Negativo**	**Total**
Seronegativo IgM (-) mediante ELISA	0	0	83	83
Primoinfección IgM (+) mediante IH	41	1	1	43
Primoinfección IgM (+) mediante ELISA	13	0	1	14
Infección secundaria IgG (+) mediante IH	41	11	34	86
Infección secundaria IgG (+) mediante ELISA	23	0	6	29
Total	**118**	**12**	**125**	**255**

			95% IC*
Sensibilidad serológica (primoinfección)	= 54/57	= 94,7%	85,4 – 98,9%
Sensibilidad serológica (infección secundaria)	= 64/115	= 55,7%	46,6 – 64,7%
Especificidad serológica (negativo)	= 83/83	= 100,0%	95,7 – 100,0%
Concordancia serológica (excluidos sueros con infección secundaria)	= 137/140	= 97,9%	93,7 – 99,6%

[a] Las muestras dudosas no se volvieron a analizar porque no estaban disponibles.

* Intervalo de confianza

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del kit de Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA se determinó analizando 7 muestras, tres veces cada una, con tres lotes distintos del kit de Panbio™ en tres días diferentes. La precisión total intraserial, interdiaria y entre lotes se estimó mediante el análisis de la varianza (ANOVA de tipo II) y se indica en la tabla 2.

Tabla 2
Mediciones de la precisión del ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA (usando el valor índice*)

			Intraserial		Interdiaria		Entre lotes		Total	
Muestra	**n**	***Media**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**
Positivo	27	2,87	0,12	4,3%	0,05	1,7%	0,62	21,6%	0,53	18,6%
Punto de corte	27	1,00	0,06	5,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,05	5,3%
Negativo #1	27	0,36	0,06	16,7%	0,00	0,0%	0,16	45,2%	0,15	41,0%
#2	27	6,19	0,31	5,1%	0,12	1,9%	0,41	6,7%	0,48	7,7%
#3	27	5,91	0,21	3,6%	0,11	1,9%	0,52	8,8%	0,49	8,3%
#4	27	1,25	0,05	4,1%	0,00	0,0%	0,10	7,9%	0,10	7,7%
#5	27	1,33	0,07	5,4%	0,03	1,9%	0,07	5,4%	0,10	7,2%
#6	27	1,30	0,08	6,1%	0,00	0,0%	0,12	9,3%	0,13	9,8%
#7	27	0,71	0,04	6,0%	0,00	0,0%	0,01	1,7%	0,04	6,0%
	27	0,81	0,06	7,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,06	7,3%

Todos los valores están calculados a partir de valores índice (punto de corte mediante densidad óptica)
DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación

Nota: los resultados de desviación estándar se han redondeado a dos decimales por motivos de tabulación.

* El valor índice se calcula dividiendo la absorbancia de la muestra entre el valor del punto de corte.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizó un panel compuesto por 115 muestras procedentes de pacientes con enfermedades confirmadas distintas de la fiebre del

dengue para establecer la especificidad analítica del ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Las muestras procedían de pacientes con enfermedades con una posible reactividad cruzada. En cada una de las muestras incluidas en el estudio se identificó el diagnóstico de la enfermedad antes de aplicar el ensayo Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Se observó una reactividad cruzada mínima en el análisis de muestras de malaria, virus del Nilo Occidental y factor reumatoide del panel de enfermedades. Consulte la tabla 3 para ver un resumen de los resultados.

Tabla 3
Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA: análisis de reactividad cruzada

Tipo de enfermedad	Muestras totales	Resultado positivo
Virus de Epstein-Barr	10	(0/10)
Malaria	10	(1/10)
Gripe A	7	(0/7)
Gripe B	3	(0/3)
Anticuerpo antinuclear	30	(0/30)
Factor reumatoide	10	(3/10)
Hepatitis A	9	(0/9)
Leptospirosis	7	(0/7)
Salmonella typhi	9	(0/9)
Tifus de las malezas	10	(0/10)
Virus del Nilo Occidental	10	(2/10)
Total	**115**	**(6/115)**

Advertencia sobre el producto:
Se han tomado todas las precauciones para garantizar la capacidad y la precisión diagnóstica de este producto. No obstante, el producto se usa fuera del control del fabricante o distribuidor y, de esa manera, los resultados pueden verse afectados por factores ambientales o error del usuario. El sujeto del diagnóstico debe consultar a un profesional para confirmar el resultado de la prueba.

Advertencia:
Los fabricantes y distribuidores de este producto no serán responsables por pérdidas directas, indirectas o derivadas, obligaciones, reclamos, costos o daños vinculados o relacionados con un diagnóstico incorrecto, tanto positivo como negativo, al usar este producto.

Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA 01PE20/01PE21

ESPAÑOL

PLACA DE LA PRUEBA
Anticuerpos anti-IgM humana



VIAL DE ANTÍGENO
Antígenos del dengue estabilizados

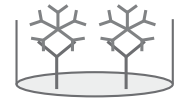


1 Agregue 100 µl de controles y muestras diluidas a la placa de la prueba.

1 Agregue 10 µl de antígeno a 2,5 ml de diluyente para antígeno y mezcle. El antígeno concentrado sin usar debe conservarse a una temperatura de entre 2 y 8°C.

2 Retire el volumen necesario de antígeno diluido y mézclelo con un volumen igual de conjugados con HRP de MAb en un frasco de cristal o en un vial de polipropileno. DESECHE EL ANTÍGENO DILUIDO QUE NO UTILICE.

3 Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 ± 1°C.

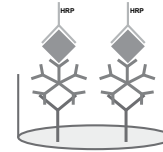


3 Incube durante 1 hora a 20-25°C.



4 Lave seis veces la placa de la prueba. Dele vueltas suavemente a la solución de antígeno-MAb conjugados para mezclarla y transfiera 100 µl por pocillo a la placa de la prueba.

5 Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 ± 1°C.



6 Lave seis veces la placa de la prueba. Después del último lavado, agregue 100 µl de TMB por pocillo e incube a 20-25 °C durante 10 minutos. Detenga la reacción con 100 µl de solución de parada y realice la lectura a 450 nm (filtro de referencia de entre 600 y 650 nm).

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O teste Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA destina-se à deteção qualitativa de anticorpos IgM contra o antigénio da dengue no soro, como auxílio no diagnóstico clínico laboratorial de pacientes com sintomas clínicos consistentes com a febre da dengue. O teste Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA deverá ser utilizado em conjunto com outra serologia da dengue.

INTRODUÇÃO

O vírus da dengue é um flavivírus encontrado em áreas extensas das regiões tropicais e subtropicais. A transmissão ocorre através do mosquito, principalmente Aedes aegypti e Aedes albopictus. A infeção por vírus da dengue origina uma variedade de manifestações clínicas, desde as pouco evidentes até à doença hemorrágica fatal. A febre clássica da dengue, também conhecida por "febre quebra-ossos", é caracterizada pelo surgimento súbito de febre, cefaleia intensa, mialgia, artralgia e erupção cutânea. É comum um percurso febril bifásico, bem como a ocorrência de insónia e anorexia, juntamente com a perda do paladar ou do sabor amargo. A febre hemorrágica da dengue e a síndrome de choque da dengue são complicações graves frequentemente associadas a infeção por um segundo serotipo. A deteção de anticorpos IgM contra o vírus da dengue mediante o ensaio ELISA é um procedimento valioso, especialmente em infeções secundárias e subsequentes em que a ocorrência de complicações é elevada. É possível detetar anticorpos IgM no soro de pacientes com dengue a partir de 3-5 dias após o início da febre, persistindo geralmente durante 30-90 dias, apesar de poderem estar presentes níveis detetáveis durante 8 meses após a infeção.

PRINCÍPIO

Quando presentes no soro, os anticorpos da classe IgM combinam-se com anticorpos IgM anti-humana adjacentes à superfície de poliestireno das tiras de teste dos micropoços. Um conjunto concentrado de antigénios 1-4 da dengue é diluído até ao volume de trabalho correto com Diluente de antigénio. Os antigénios são produzidos através de um sistema de expressão de células de inseto e imunopurificados utilizando um anticorpo monoclonal específico. Um volume igual do anticorpo monoclonal (MAb) conjugado com HRP é adicionado ao antigénio diluído, permitindo a formação de complexos MAb-antigénio. O soro residual é removido da placa de ensaio através de lavagem e é adicionado um complexo MAb-antigénio à placa de ensaio. Após a incubação, os micropoços são lavados e é adicionado um sistema de substrato incolor, tetrametilbencidina/peróxido de hidrogénio (cromogénio TMB). O substrato é hidrolisado pela enzima e o cromogénio obtém uma coloração azul. Após a interrupção da reação com ácido, o TMB fica amarelo. O desenvolvimento da coloração é indicativo da presença de anticorpos IgM contra a dengue na amostra de teste.

MATERIAIS FORNECIDOS

Nota: 01PE21 = 01PE20 x 5

1. Micropoços revestidos com anticorpos - (12 x 8 poços) Os micropoços estão revestidos com anticorpos IgM antihumana. Pronto a usar. Os micropoços não utilizados deverão ser selados novamente de imediato e armazenados na presença do dessecante. Estável a 2-8ºC até ao prazo de validade.
2. Antigénios (recombinantes) 1-4 da dengue - Um frasco de tampa **transparente**, com 150 µl de concentrado (**azul**)

de antigénios 1, 2, 3 e 4 virais da dengue com conservante (ProClin™ 300 e sulfato de gentamicina). Os antigénios diluídos não utilizados devem ser eliminados. Os antigénios concentrados são estáveis a 2-8ºC até ao prazo de validade.

3. Tampão de lavagem (20x) - Um frasco, 60 mL de concentrado (20x) de tampão salino de fosfato com Tween 20 e conservante (ProClin™ 300). Pode ocorrer cristalização a baixas temperaturas. Para corrigir, incube a 37 ºC até ficar líquido. Misture bem. Dilua uma parte do Tampão de lavagem com 19 partes de água destilada. O tampão diluído pode ser armazenado durante uma semana a 2-25ºC.
4. Diluente da amostra - Dois frascos, 50 mL (**cor-de-rosa**). Pronto a usar. Tampão Tris salino com conservantes (ProClin™ 300) e aditivos. Estável a 2-8ºC até ao prazo de validade.
5. Diluente de antigénio – Um frasco, 50 mL (**transparente**). Pronto a usar. Tampão de fosfato com conservantes (ProClin™ 300 e sulfato de gentamicina). Estável a 2-8 ºC até ao prazo de validade.
6. Anticorpo monoclonal conjugado com HRP - Um frasco, 7 mL (**amarelo**). Pronto a usar. Anticorpo 6B6C-1 monoclonal conjugado com peroxidase de rábano-silvestre (ProClin™ 300) e diluente da conjugada. Estável a 2-8 ºC até ao prazo de validade.
7. Cromogénio TMB (TMB) - Um frasco, 15 mL. Pronto a usar. TMB em funcionamento. Estável a 2-8 ºC até ao prazo de validade.
8. Controlo positivo - Um frasco de tampa **preta**, com 200 µl de soro humano positivo para o vírus da dengue inativado (contém azida de sódio e sulfato de gentamicina). Estável a 2-8 ºC até ao prazo de validade.
9. Calibrador - Um frasco com tampa cor de **laranja**, com 400 µl de soro humano positivo para o vírus da dengue inativado (contém azida de sódio e sulfato de gentamicina). Estável a 2-8 ºC até ao prazo de validade.
10. Controlo negativo - Um frasco de tampa **branca**, com 200 µl de soro humano negativo para o vírus da dengue inativado (contém azida de sódio e sulfato de gentamicina). Estável a 2-8 ºC até ao prazo de validade.
11. Solução de paragem - Um frasco com tampa **vermelha**, 15 mL. Pronto a usar. Ácido fosfórico 1M. Estável a 2-25 ºC até ao prazo de validade.

ProClin™ 300 é uma marca comercial registada da Rohm and Haas Company.

* Classificação em conformidade com o Regulamento (CE) N.º 1272/2008:

Identificador do produto	**Nome comercial**	Antigénios 1-4 de dengue, Tampão de lavagem, Diluente da amostra, Diluente do antigénio , Conjugada com HRP
	Substância perigosa	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4- isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H -isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)
Classificação		Corrosão/irritação cutânea Categoria 2 Lesões/irritação oculares graves Categoria 2 Sensibilização cutânea Categoria 1

Pictograma de perigo	
Palavra-sinal	Atenção
Advertências de perigo	H315: Provoca irritação cutânea H317: Pode provocar uma reacção alérgica cutânea H319: Provoca irritação ocular grave
Recomendações de prudência	
Prevenção	P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis P264: Lavar as mãos cuidadosamente após manuseamento P272 A: roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho P280: Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial
Resposta	P302+P352: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes P305+P351+P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar P321: Tratamento específico P332+P313: Em caso de irritação cutânea: consulte um médico P333+P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico P337+P313: Caso a irritação ocular persista: consulte um médico P362: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar P363: Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar
Eliminação	P501: eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais/regionais/nacionais/internacionais

MATERIAIS ADICIONAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

1. Micropipetadores ajustáveis precisos com pontas de pipetas descartáveis (capacidade de 5-1000 µL)
2. Água desionizada
3. Sistema de lavagem de microplacas
4. Leitor de microplacas com filtro de 450 nm
5. Temporizador
6. Proveta graduada
7. Frasco
8. Tubos de ensaio ou placa de microtitulação para diluições de soro
9. Tubos ou frascos de plástico ou vidro para a diluição do antigénio.

AVISOS

1. Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Todos os materiais de origem humana utilizados na preparação de controlos foram testados para deteção de anticorpos contra o vírus da imunodeficiência humana 1 e 2 (VIH 1 e 2), hepatite C (VHC) e antigénio de superfície da hepatite B, tendo sido considerados negativos. No entanto, nenhum método de teste pode oferecer total garantia. Como tal, todos os controlos humanos e antigénios deverão ser manuseados como materiais potencialmente infeciosos. O Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC, Centers for Disease Control and Prevention) e os Institutos Nacionais de Saúde (NIH, National Institutes of Health) recomendam que os agentes potencialmente infeciosos sejam manuseados de acordo com o

nível 2 de segurança biológica[1].

3. Este teste deve ser realizado apenas em soro. A utilização de sangue total, plasma ou outra matriz de amostra não foi estabelecida.
4. Não deverão ser utilizados soros ictéricos ou lipémicos, nem soros que revelem hemólise ou crescimento microbiano.
5. Não inative os soros por calor.
6. Todos os reagentes devem atingir a temperatura ambiente (20-25ºC) antes do início do ensaio. O ensaio será afetado por mudanças de temperatura. Não remova os micropoços do saco fechado até atingirem a temperatura ambiente (20-25ºC).
7. Aplique os reagentes diretamente a partir dos frascos utilizando pontas de pipetas limpas. A transferência de reagentes pode resultar em contaminação.
8. Os micropoços não utilizados deverão ser selados novamente de imediato e armazenados na presença do dessecante. Caso contrário, poderão ser produzidos resultados errados.
9. Sistema de substrato:
   (a) Dado que o TMB é suscetível de contaminação por iões metálicos, não permita que o sistema de substrato entre em contacto com superfícies metálicas.
   (b) Evite a exposição prolongada à luz direta.
   (c) Alguns detergentes podem interferir com o desempenho do TMB.
   (d) O TMB pode apresentar uma coloração azul ténue. Isto não afeta a atividade do substrato nem os resultados do ensaio.



10. Alguns componentes do kit contêm azida de sódio, que pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre, formando azidas metálicas altamente explosivas. Ao eliminar estes reagentes nas canalizações, adicione um grande volume de água para impedir a acumulação de azidas nos canos.
11. A azida de sódio inibe a atividade do conjugado. Devem ser utilizadas pontas de pipetas limpas para a adição do conjugado, para que a azida de sódio não seja transferida a partir de outros reagentes.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

O sangue obtido por punção venosa deve coagular à temperatura ambiente (20-25ºC) e depois ser centrifugado de acordo com o Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute) (Norma aprovada - Procedimentos para a colheita de amostras de sangue de diagnóstico por punção venosa, H3).

O soro deve ser separado o mais rapidamente possível e refrigerado (2-8ºC) ou armazenado congelado (≤-20ºC) se não for testado no prazo de 2 dias. Não é recomendado o uso de congeladores com autodescongelação para o armazenamento. A utilização de soros ictéricos ou de soros que revelem hemólise, lipemia ou crescimento microbiano não é recomendada. O CLSI disponibiliza recomendações para o armazenamento de amostras de sangue (Norma aprovada - Procedimentos para o manuseamento e processamento de amostras de sangue, H18).

PROCEDIMENTO DE TESTE

Nota: Certifique-se de que todos os reagentes atingem a temperatura ambiente (20-25°C) antes do início do ensaio. Arealização do ensaio fora dos intervalos de tempo e temperatura indicados poderá produzir resultados inválidos. Os ensaios que não cumpram os intervalos de tempo e temperatura estabelecidos devem ser repetidos.

Pré-diluição do soro

1. Retire o número necessário de micropoços da saqueta de folha de alumínio e insira-os no suporte de tiras. São necessários cinco micropoços para o Controlo negativo (N), o Controlo positivo (P) e o Calibrador (CAL) em triplicado. Certifique-se de que os restantes poços não utilizados são bem selados na saqueta de folha de alumínio.
2. Utilizando tubos de ensaio adequados ou uma placa de microtitulação, dilua o Controlo negativo, o Controlo positivo, o Calibrador e as amostras do paciente:
   (a) Adicione 990 µL de Diluente da amostra a 10 µL de soro. Misture bem.

   Em alternativa,

   (b) Adicione 90 µL de Diluente da amostra a 10 µL de soro. Retire 20 µL do soro diluído e adicione 180 µL de Diluente da amostra. Misture bem.

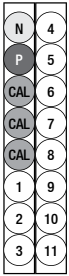
PROCEDIMENTO ELISA

Consulte a imagem em anexo para obter um resumo do método.

(A) Antigénio

1. Determine o número necessário de poços para o seu ensaio. Dilua o antigénio na proporção de 1:250 utilizando o Diluente de antigénio. Recomenda-se uma diluição mínima de 10 µL de antigénio em 2,5 mL de Diluente de antigénio. Isto será suficiente para um máximo de cinco tiras (40 poços). É necessário um volume de 0,5 mL de antigénio diluído por cada tira. Após a adição do antigénio ao Diluente de antigénio, a solução obtém uma coloração azul-clara. Certifique-se de que o restante antigénio concentrado não utilizado permanece a 2-8°C.
2. Remova o volume necessário de antigénio diluído e misture com um volume igual de Marcador de MAb num frasco limpo de vidro ou polipropileno. Misture cuidadosamente a solução de Marcador de MAb-antigénio e deixe-a à temperatura ambiente (20-25°C) até que seja necessária. Elimine o antigénio diluído não utilizado.

(B) Placa de ensaio



1. 10 minutos depois de misturar o Marcador de MAb e o antigénio diluído, pipete 100 µL de amostra do paciente e de Controlos diluídos para os respetivos micropoços da placa de ensaio.
2. Cubra a placa e incube durante 1 hora a 37 ±1°C.
3. Lave seis (6) vezes com Tampão de lavagem diluído (consulte o procedimento de lavagem).
4. Misture a solução de Marcador de MAb-antigénio antes de transferir. Pipete 100 µL de complexos MAb-antigénio do frasco de antigénio para os poços adequados da placa de ensaio.
5. Cubra a placa e incube durante 1 hora a 37 ±1°C.
6. Lave seis (6) vezes com Tampão de lavagem diluído (consulte o procedimento de lavagem).

7. Pipete 100 µL de TMB para cada poço.
8. Incube durante 10 minutos à temperatura ambiente (20-25ºC), a contar desde a primeira adição. Desenvolver-se-á uma coloração azul.
9. Pipete 100 µL de Solução de paragem para todos os poços na mesma ordem e sequência temporal que a adição de TMB. Misture bem. A coloração azul mudará para amarelo.
10. Após 30 minutos, leia a absorvância de cada poço a um comprimento de onda de 450 nm com um filtro de referência de 600-650 nm.

Nota: Se estiver disponível um espetrofotómetro com comprimento de onda duplo, defina o filtro de referência entre 600 e 650 nm. A leitura dos micropoços a 450 nm sem um filtro de referência pode resultar em valores de absorvância mais elevados devido ao fundo.

PROCEDIMENTO DE LAVAGEM

Uma lavagem eficaz para remover amostras ou componentes não agregados em complexos é um requisito essencial do procedimento ELISA.

A. Lavador automático de placas

(1) Aspire completamente todos os poços.
(2) Encha todos os poços até ao limite (350 µL) durante o ciclo de lavagem.
(3) Após a conclusão de seis (6) lavagens, inverta a placa e bata firmemente numa toalha de papel absorvente para garantir que o Tampão de lavagem é removido na totalidade.
(4) Os lavadores automáticos de placas devem ser bem mantidos para garantir uma lavagem eficaz. As instruções de limpeza do fabricante deverão ser sempre seguidas.

B. Lavagem manual

(1) Elimine os conteúdos da placa num recipiente de resíduos adequado.
(2) Encha os poços com Tampão de lavagem utilizando um frasco comprimível adequado. Evite a formação de bolhas do Tampão de lavagem, já que isso pode reduzir a eficácia da lavagem. Elimine imediatamente o Tampão de lavagem dos poços.
(3) Encha novamente os poços com Tampão de lavagem e elimine imediatamente.
(4) Repita o passo (3) mais quatro vezes. Serão no total seis (6) lavagens com Tampão de lavagem.
(5) Após a última lavagem, elimine os conteúdos dos poços e bata com a placa em toalha de papel absorvente para garantir que o Tampão de lavagem é removido na totalidade.

CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO

Cada kit contém um Calibrador, um Controlo positivo e um Controlo negativo. Os valores aceitáveis para os mesmos encontram-se na folha de especificações anexa. Os Controlos negativo e positivo destinam-se a monitorizar a ocorrência de uma falha substancial dos reagentes. O Controlo positivo não garantirá a precisão no cut-off do ensaio. O teste é inválido e deverá ser repetido se as leituras de absorvância de qualquer um dos Controlos ou do Calibrador não cumprirem as especificações. Se o teste for inválido, os resultados do paciente não podem ser registados.

Os requisitos de Controlo de qualidade (CQ) devem ser executados em conformidade com os regulamentos locais, estaduais e/ou federais ou com os requisitos de certificação e com os procedimentos padrão de CQ do seu laboratório.
Recomenda-se que o utilizador consulte os documentos CLSI C24-A e 42 CFR 493.1256 para obter orientações relativamente às práticas de CQ adequadas.

CÁLCULOS

NOTA IMPORTANTE: O fator de calibração é específico ao lote e encontra-se detalhado na folha de especificações. Obtenha o valor do fator de calibração antes de iniciar os cálculos.

1. Calcule a absorvância média dos triplicados do Calibrador e multiplique pelo fator de calibração. Este é o valor de cut-off.
2. É possível calcular um valor de índice dividindo a absorvância da amostra pelo valor de cut-off [calculado no passo (1) acima].

Em alternativa,

3. É possível calcular as unidades Panbio™ multiplicando o valor de índice [calculado no passo (2) acima] por 10.

$$\textbf{Valor de índice} = \frac{\textbf{Absorvância da amostra}}{\textbf{Valor de cut-off}}$$

Exemplo: Absorvância da amostra A = 0,949
Absorvância da amostra B = 0,070

Absorvância média do Calibrador = 0,802
Fator de calibração = 0,62

Valor de cut-off = 0,802 x 0,62 = 0,497

Amostra A (0,949/0,497) = 1,91 (Valor de índice)
Amostra B (0,070/0,497) = 0,14 (Valor de índice)

Unidades Panbio™ = Valor de índice X 10

Amostra A 1,91 X 10 = 19,1 (Unidades Panbio™)
Amostra B 0,14 X 10 = 1,4 (Unidades Panbio™)

INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O cut-off foi determinado utilizando populações endémicas do sudoeste asiático/América do sul e uma população local de Queensland, Austrália, com 208 amostras caracterizadas como negativas (208/409), 91 amostras caracterizadas como positivas (91/409) e 110 amostras de controlos da doença (110/409). O cut-off foi determinado por análise das características de operação do recetor de dois gráficos (TG-ROC)[2,3]. Foi selecionada uma relação de cut-off de 1,0 com base no valor F ideal para sensibilidade e especificidade.
Diagnóstico de infeção por vírus da dengue: O teste Dengue IgM Capture ELISA determina o nível de anticorpos IgM contra a dengue no soro de um paciente. Um resultado positivo (>11 unidades Panbio™) é indicativo de uma infeção primária ou secundária ativa por vírus da dengue. Se for necessária uma diferenciação entre infeção primária e secundária, deverá ser utilizado o teste Dengue Duo (07PE10) ELISA.

ÍNDICE	UNIDADES Panbio™	RESULTADO
<0,9	<9	Negativo
0,9 – 1,1	9 – 11	Ambíguo
>1,1	>11	Positivo

RESULTADO	INTERPRETAÇÃO
Negativo	Nenhum anticorpo IgM detetável. O resultado não exclui infeção por vírus da dengue. Deverá ser testada uma amostra adicional em 7 va 14 dias, se houver suspeita de infeção em fase inicial. Deverão ser realizados outros ensaios da dengue para excluir infeção aguda.
Ambíguo	As amostras ambíguas deverão ser repetidas. As amostras que permaneçam ambíguas após a repetição do teste deverão ser repetidas utilizando um método alternativo ou deverá ser colhida outra amostra.
Positivo	Presença de anticorpo IgM detetável. Deverão ser realizados outros ensaios serológicos da dengue para confirmar a infeção por vírus da dengue.

Segue-se o método recomendado para registar os resultados obtidos: "Os seguintes resultados foram obtidos com o teste Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Os valores obtidos com métodos diferentes não podem ser utilizados de forma indistinta. A magnitude do resultado medido, acima do cut-off, não é indicativa da quantidade total de anticorpos presentes." O resultado deverá ser registado como positivo, negativo ou ambíguo e não como um valor numérico.

LIMITAÇÕES DO TESTE

1. O diagnóstico clínico deve ser interpretado juntamente com os sinais e sintomas clínicos do paciente. Os resultados deste kit não constituem, por si só, um diagnóstico e deverão ser considerados em associação com outros dados clínicos e com os sintomas do paciente.
2. A seroepidemiologia da população pode variar ao longo do tempo em regiões geográficas diferentes. Consequentemente, o cut-off pode ter de ser ajustado com base em estudos locais.
3. Não deverá ser realizado um rastreio da população geral. O valor preditivo positivo depende da probabilidade de presença do vírus. O teste só deverá ser realizado em pacientes com sintomas clínicos ou quando houver suspeita de exposição.
4. É comum a reatividade serológica cruzada no grupo dos flavivírus (ou seja, entre os vírus da dengue 1, 2, 3 e 4, da encefalite de Murray Valley, da encefalite japonesa, da febre-amarela e do Nilo Ocidental). Estas doenças devem ser excluídas antes de se confirmar o diagnóstico.
5. Os anticorpos heterofílicos são uma causa reconhecida de interferência nos imunoensaios4. Estes anticorpos contra a IgG animal podem fazer reação cruzada com os anticorpos do reagente e produzir um sinal falso-positivo. Isto deve ser excluído antes de se confirmar o diagnóstico.
6. As características de desempenho não foram estabelecidas para determinação visual dos resultados.
7. Este ensaio utiliza proteínas expressas de insetos. A reatividade

cruzada ou interferência de anticorpos humanos anti-inseto é desconhecida nos resultados do ensaio.

8. Todos os soros que revelem um resultado positivo através do teste Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA deverão ser encaminhados para um laboratório de referência para confirmação da positividade e registo epidemiológico.
9. Os testes Panbio™ Dengue Duo ELISA (07PE10) e Panbio™ Dengue IgG Capture-ELISA (01PE10) são mais convenientes para determinação da IgG. Ambos utilizam o mesmo método de captura que o IgM ELISA, pelo que a IgM e a IgG são determinadas utilizando um método comum e uma diluição do soro também comum.

VALORES ESPERADOS

A infeção primária por vírus da dengue é caracterizada pela presença de níveis significativos ou crescentes de IgM 3 a 5 dias após o início da infeção, podendo persistir durante 3 a 5 meses. A infeção secundária é caracterizada por um aumento da IgG específica 1 a 2 dias após o início da infeção e, na maioria dos casos (>70%), é acompanhada de um aumento da IgM. Nas infeções em fase inicial e em alguns casos de infeção secundária, os níveis de anticorpos IgM detetáveis podem ser baixos. Alguns pacientes podem não produzir níveis detetáveis de anticorpos nos primeiros sete a dez dias após a infeção. Em caso de persistência dos sintomas, recomenda-se que os pacientes sejam testados novamente sete dias após a colheita da primeira amostra.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

255 soros caracterizados foram testados no Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA como parte de um estudo interno. Os soros incluíam 83 amostras seronegativas endémicas, 57 amostras de pacientes com infeção primária por vírus da dengue e 115 amostras de pacientes com infeção secundária por vírus da dengue. Os resultados do teste Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA foram comparados com o estado serológico relativamente à dengue para determinar a sensibilidade, a especificidade e a concordância do ensaio. Os dados estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1

Sensibilidade e especificidade serológicas de IgM da dengue do teste Panbio™ ELISA em comparação com o estado relativamente à dengue

	Panbio™ ELISA			
Estado relativamente à dengue	**Positivo**	**Ambíguo[a]**	**Negativo**	**Total**
Seronegativa IgM (-) por ELISA	0	0	83	83
Infeção primária IgM (+) por IH	41	1	1	43
Infeção primária IgM (+) por ELISA	13	0	1	14
Infeção secundária IgG (+) por IH	41	11	34	86
Infeção secundária IgG (+) por ELISA	23	0	6	29
Total	**118**	**12**	**125**	**255**

			95% IC*
Sensibilidade serológica (Primária)	= 54/57	= 94,7%	85,4 – 98,9%
Sensibilidade serológica (Secundária)	= 64/115	= 55,7%	46,6 – 64,7%
Especificidade serológica (Negativa)	= 83/83	= 100,0%	95,7 – 100,0%
Concordância serológica	= 137/140	= 97,9%	93,7 – 99,6%

(Excluindo soros secundários)

[a] Não foram realizados novos testes nas amostras ambíguas, por falta de disponibilidade das mesmas.

* Intervalo de confiança

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade do kit Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA foi determinada testando 7 soros, 3 vezes cada, em três números de lote do kit Panbio™ e em três dias diferentes. As precisões intra-série, inter-dia, inter-lote e total foram estimadas mediante análise de variância (ANOVA, tipo II) e encontram-se apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2
Medições da precisão do teste Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA (utilizando o valor de índice*)

			Intra-série		Inter-dia		Inter-lote		Total	
Amostra	**n**	***Média**	***DP**	**CV**	***DP**	**CV**	***DP**	**CV**	***DP**	**CV**
Positiva	27	2,87	0,12	4,3%	0,05	1,7%	0,62	21,6%	0,53	18,6%
Cut-off	27	1,00	0,06	5,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,05	5,3%
Negativa	27	0,36	0,06	16,7%	0,00	0,0%	0,16	45,2%	0,15	41,0%
#1	27	6,19	0,31	5,1%	0,12	1,9%	0,41	6,7%	0,48	7,7%
#2	27	5,91	0,21	3,6%	0,11	1,9%	0,52	8,8%	0,49	8,3%
#3	27	1,25	0,05	4,1%	0,00	0,0%	0,10	7,9%	0,10	7,7%
#4	27	1,33	0,07	5,4%	0,03	1,9%	0,07	5,4%	0,10	7,2%
#5	27	1,30	0,08	6,1%	0,00	0,0%	0,12	9,3%	0,13	9,8%
#6	27	0,71	0,04	6,0%	0,00	0,0%	0,01	1,7%	0,04	6,0%
#7	27	0,81	0,06	7,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,06	7,3%

Todos os valores são calculados a partir dos valores de índice [cut-off utilizando a densidade ótica (DO)]

DP = Desvio-padrão; CV = Coeficiente de variação

Nota: Os resultados do desvio-padrão foram arredondados para duas casas decimais para efeitos de tabulação.

* O valor de índice é calculado dividindo a absorvância da amostra pelo valor de cut-off.

REATIVIDADE CRUZADA

Foi testado um painel de 115 amostras de pacientes com doenças diferentes da febre da dengue confirmadas para estabelecer a especificidade analítica do teste Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. As amostras foram obtidas de pacientes com doenças que têm potencial para reatividade cruzada. Cada uma das amostras incluídas no estudo foi caracterizada relativamente ao diagnóstico da doença antes da análise com o teste Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. Observou-se uma reatividade cruzada mínima nas amostras de malária, de vírus do Nilo Ocidental e de fator reumatoide testadas. Consulte a Tabela 3 para obter um resumo dos resultados.

Tabela 3
Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA – Análise da reatividade cruzada

Tipo de doença	Amostras totais	Resultado positivo
Vírus Epstein-Barr	10	(0/10)
Malária	10	(1/10)
Influenza A	7	(0/7)
Influenza B	3	(0/3)
Anticorpos anti-nucleares	30	(0/30)
Fator reumatoide	10	(3/10)
Hepatite A	9	(0/9)
Leptospira	7	(0/7)
Salmonella typhi	9	(0/9)
Tifo das moitas (*Scrub typhus*)	10	(0/10)
Vírus do Nilo Ocidental	10	(2/10)
Total	**115**	**(6/115)**

Renúncia do produto:
Embora tenham sido tomadas todas as precauções para garantir a capacidade e exatidão de diagnóstico deste produto, o mesmo é utilizado fora do controlo do fabricante e distribuidor, pelo que os resultados dos testes poderão ser afetados em conformidade com fatores ambientais e/ou erros dos utilizadores. A pessoa a quem se aplica o diagnóstico deve consultar um médico para confirmar posteriormente o resultado.

Aviso:
Os fabricantes e os distribuidores deste produto não se responsabilizam por quaisquer perdas diretas, indiretas ou consequenciais, compensações, reclamações, custos ou danos resultantes ou relacionados com um diagnóstico incorreto, seja este positivo ou negativo, aquando da utilização do produto.

Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA 01PE20/01PE21

PORTUGUÊS

PLACA DE ENSAIO
IgM anti-humana



FRASCO DE ANTIGÉNIO
Antigénios da dengue estabilizados

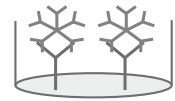


1 Adicione 100 µL de amostras e controlos diluídos à placa de ensaio.

1 Adicione 10 µL de antigénio a 2,5 mL de diluente de antigénio e misture. O antigénio concentrado não utilizado deverá ser armazenado a 2-8 °C.

2 Remova o volume necessário de antigénio diluído e misture com um volume igual de conjugada com HRP de MAb num frasco de vidro ou polipropileno separado. ELIMINE O ANTIGÉNIO DILUÍDO NÃO UTILIZADO.

3 Tape a placa e incube durante 1 hora a 37 ± 1 °C.

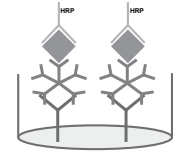


3 Incube durante 1 hora a 20-25 °C.



4 Lave 6 vezes a placa de ensaio. Após uma rotação cuidadosa para misturar a solução de antigénio-Mab conjugada, transfira 100 µL por poço para a placa de ensaio.

5 Cubra a placa e incube durante 1 hora a 37 ± 1 °C.



6 Lave 6 vezes a placa de ensaio. Após a última lavagem, adicione 100 µL de TMB por poço e incube a 20-25 °C durante 10 minutos. Interrompa a reação com 100 µL de Solução de paragem e leia a 450 nm (referência de 600 a 650 nm).

VERWENDUNGSZWECK

Der Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA dient dem qualitativen Nachweis von IgM-Antikörpern gegen Dengueantigene im Serum zur Unterstützung der klinischen Labordiagnose von Patienten mit klinischer Symptomatik des Denguefiebers. Der Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA sollte zusammen mit anderen serologischen Maßnahmen zur Diagnose des Denguefiebers eingesetzt werden.

EINFÜHRUNG

Das zur Gruppe der Flaviviren gehörende Denguevirus ist in den Tropen und Subtropen weit verbreitet. Die Übertragung erfolgt durch Stechmücken, hauptsächlich durch Aedes aegypti und Aedes albopictus. Denguevirusinfektionen führen von nicht erkennbarer bis hin zu tödlicher Hämorrhagie zu einem breiten Spektrum klinischer Manifestationen. Klassisches Denguefieber, auch Knochenbrecherfieber genannt, ist durch den plötzlichen Ausbruch von Fieber, starken Kopfschmerzen, Myalgie, Arthralgie und Ausschlag gekennzeichnet. Häufig ist ein zweiphasischer febriler Verlauf zu beobachten; außerdem treten Schlaflosigkeit und Anorexie mit Wahrnehmung eines bitteren Geschmacks oder Geschmacksverlust auf. Hämorrhagisches Dengue-Fieber sowie das Dengue-Schock-Syndrom sind schwere Komplikationen, die häufig in Zusammenhang mit einer Infektion mit einem weiteren Serotyp stehen. Der Nachweis von IgM-Antikörpern gegen Denguevirus mit ELISA ist besonders bei zweiten und nachfolgenden Infektionen, in Fällen, in denen das Auftreten von Komplikationen höher ist, ein wertvolles Verfahren. Serum-IgM-Antikörper können bei Dengue-Patienten bereits drei bis fünf Tage nach dem Ausbruch von Fieber nachgewiesen werden und persistieren im Allgemeinen 30 – 90 Tage, obwohl nachweisbare Konzentrationen noch 8 Monate nach der Infektion vorhanden sein können.

PRINZIP

Serumantikörper der IgM-Klasse, falls vorhanden, binden sich an die Anti-Human-IgM-Antikörper, die sich auf der Polystyrol-Oberfläche der Mikrotiterstreifen befinden. Ein konzentrierter Pool der Dengue 1-4 Antigene wird mit Antigen-Diluent verdünnt, sodass das korrekte Arbeitsvolumen erreicht wird. Die Antigene werden mittels Expressionssystemen von Insektenzellen hergestellt und mit einem speziellen monoklonalen Antikörper einer Immunoreinigung unterzogen. Die gleiche Menge an mit HRP konjugierten monoklonalen Antikörpern (MAb) wird zum verdünnten Antigen hinzugegeben, wodurch die Bildung von Antigen-MAb-Komplexen ermöglicht wird. Serumreste werden von der Assayplatte abgewaschen und Antigen-MAb-Komplexe auf die Assayplatte aufgetragen. Nach der Inkubation werden die Kavitäten gewaschen und wird ein farbloses Substratsystem, Tetramethylbenzidin/Wasserstoffperoxid (TMB-Chromogen), zugegeben. Das Substrat wird vom Enzym hydrolysiert, und das Chromogen nimmt eine blaue Farbe an. Nach Stoppen der Reaktion mit Säure verfärbt sich das TMB gelb. Die Farbentwicklung weist auf das Vorhandensein von Anti-Dengue-IgM-Antikörpern in der Testprobe hin.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Hinweis: 01PE21 = 01PE20 x 5

1. Antikörperbeschichtete Mikrotiterstreifen - Die Mikrotiterplatten (12 x 8 Kavitäten) Die Mikrotiterstreifen

sind mit Anti-Human IgM-Antikörpern beschichtet. Gebrauchsfertig. Unbenutzte Kavitäten sofort wieder verschließen und mit einem Trockenmittel aufbewahren. Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.

2. Dengue 1-4 Antigen (Rekombinant) – Ein Fläschchen mit **durchsichtiger** Verschlusskappe, 150 µl (**Blau**) konzentrierte Dengue-Virus-Antigene 1, 2, 3 und 4 mit Konservierungsmittel (Proclin™ 300 und Gentamicinsulfat). Unbenutztes verdünntes Antigen muss entsorgt werden. Konzentriertes Antigen ist bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil. ⚠
3. Waschpuffer (20x) – 1 Flasche, 60 ml 20x-Konzentrat aus phosphatgepufferter Kochsalzlösung und Tween 20 mit Konservierungsmittel (Proclin™ 300). Bei niedrigen Temperaturen kann es zur Kristallisation kommen. Um dieses Problem zu beheben, bei 37°C inkubieren, bis die Lösung klar ist. Gründlich mischen. Einen Teil Waschpuffer mit 19 Teilen destilliertem Wasser verdünnen. Der verdünnte Waschpuffer kann bei 2 – 25°C eine Woche lang aufbewahrt werden. ⚠
4. Probenverdünner – 2 Flaschen, 50 ml (**Pink**). Gebrauchsfertig. Tris-gepufferte Kochsalzlösung mit Konservierungsmitteln (Proclin™ 300) und Additiven. Bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil. ⚠
5. Antigen-Diluent – 1 Flasche, 50 ml (**Klar**). Gebrauchsfertig. Phosphatpuffer mit Konservierungsmittel (Proclin™ 300 und Gentamicinsulfat). Bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil. ⚠
6. Mit HRP konjugierter monoklonaler Antikörper-1 Flasche, 7 ml (**Gelb**). Gebrauchsfertig. Mit Meerrettichperoxidase konjugierter 6B6C-1 monoklonaler Antikörper mit Konservierungsmittel (Proclin™ 300) und konjugiertes-diluent. Bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil. ⚠
7. TMB-Chromogen (TMB) – 1 Flasche, 15 ml. Gebrauchsfertig. TMB-Chromogen. Bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil.
8. Negativkontrolle – Ein Fläschchen mit **schwarzer** Verschlusskappe, 200 µl inaktiviertes Dengue-Virus-positives Humanserum (enthält Natriumazid und Gentamicinsulfat). Bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil.
9. Kalibrator – 1 Fläschchen mit **oranger** Verschlusskappe, 400 µl inaktiviertes Dengue-Virus-positives Humanserum (enthält Natriumazid und Gentamicinsulfat). Bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil.
10. Negativkontrolle – Ein Fläschchen mit **weißer** Verschlusskappe, 200 µl inaktiviertes Dengue-Virus-negatives Humanserum (enthält Natriumazid und Gentamicinsulfat). Bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil.
11. Stopplösung – 1 Flasche mit **roter** Verschlusskappe, 15 ml. Gebrauchsfertig. 1M Phosphorsäure. Bei 2 – 25 °C bis zum Verfallsdatum stabil.

Proclin™ 300 ist ein eingetragenes Warenzeichen von Rohm and Haas.

* Klassifikation gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008:

Produkti-dentifikator	**Handels-name**	Dengue 1-4 Antigen, Waschpuffer, Probenverdün-ner, Antigen-Diluent , HRP konjugiertes
	Gefahrstoff	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4- isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H -isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)
Klassifikation		Ätz/Reizwirkung auf die Haut Kategorie2 Schwere Augenschädigung/-reizung Kategorie2 Hautsensibilisierung Kategorie1

Gefahrenpiktogramm	
Signalwort	Achtung
H-Sätze	H315: Verursacht Hautreizungen H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen H319: Verursacht schwere Augenreizung
P-Sätze	
Vermeidung	P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden P264: Nach Gebrauch Hände gründlich waschen P272: Kontaminierte Arbeitskleidung sollte außerhalb des Arbeitsplatzes verboten werden P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen
Reaktion	P302+P352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen P321: Besondere Behandlung P332+P313: Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen P333+P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen P337+P313: Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen P362: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen P363: Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen
Entsorgung	P501: Inhalt/Behälter in Übereinstimmung mit den entsprechenden lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen

WEITERE ERFORDERLICHE MATERIALIEN (NICHT IM TESTKIT ENTHALTEN)

1. Genaue, einstellbare Mikropipetten mit Einwegpipettenspitzen (5 – 1000 µl Fassungsvermögen)
2. Entionisiertes Wasser
3. Waschanlage für Mikrotiterplatten
4. Mikrotiterplattenleser mit 450-nm-Filter
5. Zeitmesser
6. Messzylinder
7. Flasche
8. Reagenzröhrchen oder Mikrotiterplatte für Serumverdünnungen
9. Röhrchen oder Fläschchen aus Glas oder Kunststoff zu Antigen-Verdünnung

WARNHINWEISE

1. *In-vitro*-diagnostikum.
2. Alle zur Zubereitung der Kontrollseren verwendeten menschlichen Ausgangsstoffe wurden auf Antikörper gegen das humane Immunschwächevirus 1 und 2 (HIV 1 und 2), Hepatitis-C- (HCV) sowie Hepatitis-B-Oberflächenantigen getestet und als negativ befunden. Da jedoch keine Testmethode die Abwesenheit infektiöser Substanzen garantieren kann, sollten alle humanen Kontrollseren sowie

Antigene als potenziell infektiöses Material gehandhabt werden. Gemäß den Empfehlungen der Centers for Disease Control and Prevention und der National Institutes of Health (USA) ist potenziell infektiöses Material bei Biosicherheitsstufe 2[1] zu handhaben.

3. Diesen Test nur an Serum durchführen. Für die Verwendung an Vollblut, Plasma oder anderem Probenmaterial liegen keine Daten vor.
4. Keine ikterischen oder lipämischen Seren bzw. Seren mit Anzeichen von Hämolyse oder Keimwachstum verwenden.
5. Seren nicht hitzeinaktivieren.
6. Alle Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 – 25°C) erreichen lassen. Temperaturschwankungen beeinträchtigen den Test. Die Kavitäten (Mikrotiterstreifen) erst aus dem geschlossenen Beutel nehmen, wenn sie Raumtemperatur (20 – 25°C) erreicht haben.
7. Reagenzien mithilfe sauberer Pipettenspitzen direkt aus der Flasche dispensieren. Ein Umfüllen der Reagenzien kann zu Kontaminationen führen.
8. Unbenutzte Kavitäten sofort wieder verschließen und mit einem Trockenmittel aufbewahren. Andernfalls kann es zu falschen Ergebnissen kommen.
9. Substratsystem:
   (a) Da TMB für die Kontamination durch Metallionen anfällig ist, darf das Substratsystem nicht mit Metall in Berührung kommen.
   (b) Nicht über längere Zeit direkter Lichteinwirkung aussetzen.
   (c) Bestimmte Reinigungsmittel können die Leistung von TMB beeinträchtigen.
   (d) TMB kann eine leicht blaue Farbe aufweisen. Die Aktivität des Substrats bzw. die Ergebnisse des Assays werden dadurch nicht beeinträchtigt.



10. Einige Komponenten des Kits können Natriumazid enthalten. Dieser Stoff kann mit Blei- oder Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazidverbindungen bilden. Bei Entsorgung dieser Reagenzien durch die Kanalisation sollte mit großen Mengen Wasser nachgespült werden, um Azidansammlungen in den Abflussleitungen zu verhindern.
11. Natriumazid hemmt die Aktivität des Konjugats. Zum Hinzufügen von Konjugat müssen daher frische Pipettenspitzen verwendet werden, damit kein Natriumazid von anderen Reagenzien übertragen wird.

PROBENENTNAHME UND-VORBEREITUNG

Durch Venenpunktion gewonnenes Blut bei Raumtemperatur (20 – 25 °C) gerinnen lassen und dann gemäß den Richtlinien des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI - Approved Standard - Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3) zentrifugieren.

Das Serum sollte so bald wie möglich getrennt und anschließend gekühlt (bei 2 – 8°C) oder tiefgefroren (≤-20°C) aufbewahrt werden, wenn es nicht innerhalb von 2 Tagen getestet wird. Zur Aufbewahrung keine Gefrierschränke mit Abtauautomatik verwenden. Keine ikterischen oder lipämischen Seren bzw. Seren, die Anzeichen von Hämolyse oder Keimwachstum aufweisen, verwenden. Das CLSI

gibt Empfehlungen zur Aufbewahrung von Blutproben (Approved Standard - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

TESTABLAUF

Hinweis: **Achten Sie darauf, dass alle Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 – 25°C) angenommen haben.** Eine Durchführung des Assays außerhalb der vorgegebenen Zeit- und Temperaturbereiche kann zu ungültigen Ergebnissen führen. Assays, die nicht innerhalb der festgelegten Zeiträume und Temperaturbereiche durchgeführt werden, müssen wiederholt werden.

Vorverdünnung des Serums

1. Die benötigte Anzahl Mikrotiterstreifen aus dem Folienbeutel nehmen und in den Streifenhalter einsetzen. Fünf Kavitäten werden benötigt für: Negativkontrolle (N), Positivkontrolle (P) und Kalibrator (CAL) in dreifacher Ausführung. Achten Sie darauf, unbenutzte Mikrotiterstreifen luftdicht im Folienbeutel aufzubewahren.
2. Negativkontrolle, Positivkontrolle, Kalibrator und Patientenproben unter Verwendung geeigneter Teströhrchen oder einer Mikrotiterplatte verdünnen.
   (a) Zu 10 µl Serum 990 µl Probenverdünner hinzugeben. Gründlich mischen.

   Alternativ dazu

   (b) Zu 10 µl Serum 90 µl Probenverdünner hinzugeben. Zu 20 µl des verdünnten Serums 180 µl Probenverdünner hinzugeben. Gründlich mischen.

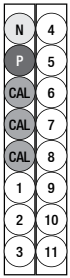
ELISA-VERFAHREN

Für die Zusammenfassung der Methode siehe beigefügte Abbildung.

(A) Antigen

1. Für den Assay erforderliche Anzahl an Kavitäten bestimmen. Das Antigen 1/250 mit Antigen-Diluent verdünnen. Es wird empfohlen, mindestens 10 µl des Antigens mit 2,5 ml des Antigen-Diluents zu verdünnen. Dies ist ausreichend für bis zu fünf Streifen (40 Kavitäten). Je Streifen ist ein Volumen von 0,5 ml des verdünnten Antigens erforderlich. Nach Zugabe des Antigen-Diluents nimmt die Lösung eine hellblaue Farbe an. Stellen Sie sicher, dass das verbleibende unbenutzte Antigen bei 2 – 8°C gelagert wird.
2. Das erforderliche Volumen des verdünnten Antigens entnehmen und mit der gleichen Mengen MAb-Tracer in einem sauberen Glas- oder Polypropylen-Fläschchen mischen. Die Antigen-MAb-Tracer-Lösung vorsichtig mischen und bis zur Verwendung bei Raumtemperatur (20 – 25°C) stehen lassen. Unbenutztes verdünntes Antigen entsorgen.

(B) Assayplatte



1. Innerhalb von 10 Minuten nach Mischen des MAb-Tracers und des verdünnten Antigens 100 µl verdünnte Patientenprobe und Kontrollen in die entsprechenden Kavitäten der Assayplatte pipettieren.
2. Assayplatte abdecken und bei 37 ± 1°C eine Stunde inkubieren.
3. Sechs (6) Mal mit verdünntem Waschpuffer waschen (siehe die Informationen zum Waschverfahren).
4. Antigen-MAb-Tracer-Lösung vor dem Umfüllen mischen. 100 µl Antigen-MAb-Komplexe aus dem Antigen-Fläschchen in die entsprechenden Kavitäten der Assayplatte pipettieren.
5. Assayplatte abdecken und bei 37 ± 1°C eine Stunde inkubieren.
6. Sechs (6) Mal mit verdünntem Waschpuffer waschen (siehe die Informationen zum Waschverfahren).
7. 100 µl TMB in jede Kavität pipettieren.
8. 10 Minuten bei Raumtemperatur (20 – 25°C) inkubieren (die Zeitmessung beginnt mit der ersten Zugabe). Eine Blaufärbung tritt ein.
9. 100 µl der Stopplösung in alle Kavitäten pipettieren. Die gleiche Reihenfolge und Zeitmessung verwenden wie für TMB. Gründlich mischen. Die blaue Farbe wechselt zu Gelb.
10. Innerhalb von 30 Minuten die Extinktion der einzelnen Kavitäten bei einer Wellenlänge von 450 nm und mit einem Referenzfilter von 600 – 650 nm ablesen.

Hinweis: Falls ein Spektrophotometer mit zwei Wellenlängen verfügbar ist, den Referenzfilter zwischen 600 und 650 nm einstellen. Ein Ablesen der Kavitäten bei 450 nm ohne Referenzfilter kann zu höheren Extinktionswerten wegen Hintergrund führen.

WASCHVERFAHREN

Ein gründliches Waschen ist entscheidend für das ELISA-Verfahren, um alle Probenreste oder Komponenten, die keine Komplexe gebildet haben, zu entfernen.

A. Plattenwaschautomat

(1) Alle Kavitäten vollständig aspirieren.

(2) Alle Kavitäten während des Waschzyklus bis zum Rand (350 µl) füllen.

(3) Nach Abschluss der sechs (6) Spülzyklen die Platte umdrehen und fest auf einem saugfähigen Papierhandtuch ausklopfen, um den Waschpuffer vollständig zu entfernen.

(4) Plattenwaschautomaten sind regelmäßig zu warten, damit die Platten gründlich gereinigt werden. Grundsätzlich sind die Reinigungsanweisungen des Herstellers zu beachten.

B. Manuelles Waschen

(1) Den Inhalt der Platte in einen geeigneten Abfallbehälter entsorgen.

(2) Die Kavitäten mit Waschpuffer füllen. Dazu eine geeignete Spritzflasche verwenden. Darauf achten, dass der Waschpuffer nicht schäumt, da dies die Reinigungswirkung beeinträchtigt. Waschpuffer sofort aus den Kavitäten ausgießen.

(3) Kavitäten erneut mit Waschpuffer füllen und sofort entleeren.

(4) Schritt (3) weitere vier Mal wiederholen. Insgesamt müssen

sechs (6) Waschvorgänge mit dem Waschpuffer durchgeführt werden.

(5) Nach Abschluss des Spülzyklus die Kavitäten entleeren und die Platte auf einem saugfähigen Papierhandtuch ausklopfen, um sicherzustellen, dass der Waschpuffer vollständig entfernt wurde.

QUALITÄTSKONTROLLE

Jedes Kit enthält einen Kalibrator sowie Positiv- und Negativkontrollen. Akzeptable Werte dafür bitte dem beiliegenden Datenblatt entnehmen. Die Negativ- und Positivkontrollen dienen der grundlegenden Überprüfung der Reagenzienaktivität. Die Positivkontrolle kann keine präzisen Angaben über die Grenzwerte des Tests liefern. Wenn die Extinktionswerte für die Kontrollen oder den Kalibrator nicht den Spezifikationen entsprechen, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden. Bei einem ungültigen Test können die Patientenresultate nicht verwendet werden.

Die Qualitätskontrolle muss in Übereinstimmung mit den Anforderungen kommunaler, einzel- oder bundesstaatlicher Behörden sowie den im jeweiligen Labor üblichen Standardverfahren zur Qualitätssicherung durchgeführt werden.

Angaben zu ordnungsgemäßen Qualitätskontrollpraktiken bitte den CLSI-Dokumenten C24-A und 42 CFR 493.1256 entnehmen.

BERECHNUNGEN

WICHTIGER HINWEIS: Der Kalibrationsfaktor ist chargenspezifisch und wird im Datenblatt angegeben. Vor Beginn der Berechnungen den Kalibrationsfaktor nachlesen.

1. Die durchschnittliche Extinktion des in dreifacher Ausführung ermittelten Kalibratorwerts berechnen und mit dem Kalibrationsfaktor multiplizieren. Dies ist der Grenzwert (Cut-off).
2. Der Indexwert kann berechnet werden, indem die Extinktion der Probe durch den oben in Schritt (1) berechneten Cut-off-Wert dividiert wird.

Alternativ dazu

3. können Panbio™-Einheiten durch Multiplikation des oben in Schritt (2) berechneten Indexwerts mit 10 ermittelt werden.

Indexwert = Extinktion der Probe / Cut-off-Wert

Beispiel: Extinktion von Probe A = 0,949
Extinktion von Probe B = 0,070

Mittlere Extinktion des Kalibrators = 0,802
Kalibrationsfaktor = 0,62
Cut-off-Wert = 0,802 x 0,62 = 0,497

Probe A (0,949/0,497) = Indexwert 1,91
Probe B (0,070/0,497) = Indexwert 0,14

Panbio™-Einheiten = Indexwert x 10

Probe A 1,91 X 10 = 19,1 Panbio™-Einheiten
Probe B 0,14 X 10 = 1,4 Panbio™-Einheiten

TESTAUSWERTUNG

Dieser Cut-off-Wert wurde mittels endemischer Populationen aus Südostasien/Südamerika und einer örtlichen Population aus Queensland, Australien aus 208 Negativ- (208/409), 91 Positiv- (91/409) und 110 Kontrollproben (110/409) ermittelt. Der Cut-off-Wert wurde mittels TG-ROC-Analyse (Two-Graph Receiver Operating Characteristic, TG-ROC) ermittelt[2,3]. Ein Cut-off-Verhältnis von 1,0 wurde basierend auf dem optimalen F-Wert für Sensitivität und Spezifität ausgewählt.

Diagnose der Dengueinfektion: Mit dem Dengue IgM Capture ELISA wird die Konzentration von IgM-Antikörpern gegen Dengueviren im Patientenserum bestimmt. Ein positives Ergebnis (>11 Panbio™-Einheiten) weist auf eine aktive primäre oder sekundäre Dengueinfektion hin. Wenn eine Differenzierung zwischen Primär- und Sekundärinfektion erforderlich ist, sollten der Dengue Duo (07PE10) ELISA verwendet werden.

INDEX	Panbio™-EINHEITEN	ERGEBNIS
<0,9	<9	Negativ
0,9 – 1,1	9 – 11	Nicht eindeutig
>1,1	>11	Positiv

ERGEBNIS	AUSWERTUNG
Negativ	Kein nachweisbarer IgM-Antikörper. Das Ergebnis schließt eine Dengueinfektion nicht aus. Besteht der Verdacht auf eine Frühinfektion, sollte in 7 – 14 Tagen eine zusätzliche Probe getestet werden. Weitere Dengue-Assays sollten durchgeführt werden, um eine akute Infektion auszuschließen.
Nicht eindeutig	Nicht eindeutige Proben sollten erneut getestet werden. Proben, die auch nach einem Wiederholungstest noch nicht eindeutig sind, sollten mit einer anderen Methode getestet werden, oder dem Patienten sollte eine neue Probe zum Testen entnommen werden.
Positiv	Vorliegen von nachweisbarem IgM-Antikörper. Es sollten weitere serologische Denguetests durchgeführt werden, um die Dengueinfektion zu bestätigen.

Empfohlene Angabe der erzielten Testresultate: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA erzielt. Mit anderen Testmethoden bestimmte Werte sind nicht untereinander austauschbar. Das den Cut-off-Wert übersteigende Messergebnis gibt nicht die vorhandene Gesamtmenge an Antikörpern an.“ Das Ergebnis ist als *positiv*, *negativ* oder *nicht eindeutig* zu bewerten und nicht als numerischer Wert anzugeben.

GRENZEN DES TESTS

1. Die klinische Diagnose muss unter Beachtung der klinischen Anzeichen und Symptome des Patienten erfolgen. Die mit diesem Kit erzielten Ergebnisse stellen für sich keine Diagnose dar und sind in Kombination mit anderen klinischen Daten und Symptomen des Patienten auszuwerten.
2. Die Seroepidemiologie von Bevölkerungen kann im Zeitverlauf in verschiedenen geographischen Regionen variieren. Folglich muss der Cut-off-Wert möglicherweise basierend auf örtlichen Studien angepasst werden.
3. Es sollten keine Screeningtests der Allgemeinbevölkerung durchgeführt werden. Der Vorhersagewert eines positiven Ergebnisses hängt von der Wahrscheinlichkeit der Viruspräsenz ab. Tests nur an Patienten mit klinischen Symptomen oder bei Verdacht auf Exposition durchführen.
4. In der Flavivirusgruppe (d. h. zwischen Dengue 1, 2, 3 und 4, Japanischer Enzephalitis, Murray Valley-Enzephalitis, St. Louis-Enzephalitis, Gelbfieberviren und West-Nil-Viren) kommt es häufig zur serologischen Kreuzreaktivität. Diese Erkrankungen müssen vor Bestätigung der Diagnose ausgeschlossen werden.
5. Heterophile Antikörper sind bekannterweise die Ursache für Wechselwirkung bei Immunoassays4. Durch diese Antikörper gegen IgG kann eine Kreuzreaktion mit Reagenzantikörpern auftreten und ein falsches Positiv-Ergebnis entstehen. Dies muss vor Bestätigung der Diagnose ausgeschlossen werden.
6. Die Leistungscharakteristika des Tests für visuelle Ergebnisbestimmungen wurden bisher nicht erforscht.
7. In diesem Assay werden exprimierte Insektenproteine eingesetzt. Die Kreuzreaktivität oder Wechselwirkung von humanen Anti-Insekten-Antikörpern ist bei den Testergebnissen unbekannt.
8. Alle Seren, bei denen mit dem Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA Test ein positives Ergebnis erzielt wurde, sollten zur Bestätigung des IgM-positiven Ergebnisses sowie zur epidemiologischen Erfassung an ein Referenzlabor gesendet werden.
9. Der Panbio™ Dengue Duo ELISA (07PE10) und der Panbio™ Dengue IgG Capture-ELISA (01PE10) sind hervorragend für die IgM-Bestimmung geeignet. Es wird sowohl beim IgG ELISA als auch beim IgM ELISA die Capture-Methode des IgM ELISA verwendet, wodurch IgM und IgG mit einer gängigen Methode und einer gängigen Serumverdünnung bestimmt werden können.

ERWARTUNGSWERTE

Eine primäre Dengueinfektion ist gekennzeichnet durch hohe oder steigende IgM-Konzentrationen 3 – 5 Tage nach Einsetzen der Infektion, die über 3 – 5 Monate andauern kann. Die Sekundärinfektion ist durch den Anstieg von spezifischem IgG 1 – 2 Tage nach dem Einsetzen der Infektion gekennzeichnet, und in den meisten Fällen (>70 %) geht dies mit einem Anstieg des IgM einher. In einem frühen Stadium und bei einigen Sekundärinfektionen können die IgM-Antikörperkonzentrationen gering sein. Es ist möglich, dass manche Patienten innerhalb der ersten sieben bis zehn Tage nach der Infektion keine nachweisbaren Antikörper- konzentrationen erzeugen. Wenn die Symptome weiterhin bestehen, empfehlen wir, den Patienten 7 Tage nach der ersten Probeentnahme erneut zu testen.

LEISTUNGSDATEN

255 gekennzeichnete Seren wurden mit dem Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA im Rahmen einer internen Studie getestet. Die Seren umfassten 83 endemische seronegative Proben, 57 Proben von Patienten mit primärer Dengueinfektion und 115 Proben von Patienten mit sekundärer Dengueinfektion. Die Ergebnisse des Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA wurden mit dem Dengue-Status der Seren verglichen, um die Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung des Assays mit dem relativen serologischen Dengue-Status zu bestimmen. Die Daten sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1
Dengue IgM – Serologische Sensitivität und Spezifität des Panbio™ ELISA im Vergleich zum Dengue-Status

Panbio™ ELISA

Dengue Status	Positiv	Nicht eindeutiga	Negativ	Gesamt
Seronegativ IgM (-) mit ELISA	0	0	83	83
Primärinfektion IgM (+) mit HAI	41	1	1	43
Primärinfektion IgM (+) mit ELISA	13	0	1	14
Sekundärinfektion IgG (+) mit HAI	41	11	34	86
Sekundärinfektion IgG (+) mit HAI	23	0	6	29
Gesamt	**118**	**12**	**125**	**255**

			95% KI*
Serologische Sensitivität (Primär)	= 54/57	= 94,7%	85,4 – 98,9%
Serologische Sensitivität (Sekundär)	= 64/115	= 55,7%	46,6 – 64,7%
Serologische Spezifität (Negativ)	= 83/83	= 100,0%	95,7 – 100,0%
Serologische Übereinstimmung (sekundäre Seren ausgeschlossen)	= 137/140	= 97,9%	93,7 – 99,6%

[a] Erneute Tests nicht eindeutiger Proben wurden nicht durchgeführt, da die Proben nicht verfügbar waren.

* Konfidenzintervall

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA Tests wurde anhand des Testens von 7 Seren nachgewiesen (je drei Tests mit je drei Panabio Chargen an drei verschiedenen Tagen). Die Genauigkeiten innerhalb des jeweiligen Testlaufs, im Tagesvergleich und im Chargenvergleich wurde mittels Varianzanalyse (ANOVA Typ II) ermittelt und wird in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2
Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA Genauigkeitswerte (anhand des Indexwerts*)

			Innerhalb des Testlaufs		Während des Tages		Chargenvergleich		Gesamt	
Probe	**n**	***Mittelwert**	***SA**	**VK**	***SA**	**VK**	***SA**	**VK**	***SA**	**VK**
Positiv	27	2,87	0,12	4,3%	0,05	1,7%	0,62	21,6%	0,53	18,6%
Schwellenwert	27	1,00	0,06	5,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,05	5,3%
Negativ	27	0,36	0,06	16,7%	0,00	0,0%	0,16	45,2%	0,15	41,0%
#1	27	6,19	0,31	5,1%	0,12	1,9%	0,41	6,7%	0,48	7,7%
#2	27	5,91	0,21	3,6%	0,11	1,9%	0,52	8,8%	0,49	8,3%
#3	27	1,25	0,05	4,1%	0,00	0,0%	0,10	7,9%	0,10	7,7%
#4	27	1,33	0,07	5,4%	0,03	1,9%	0,07	5,4%	0,10	7,2%
#5	27	1,30	0,08	6,1%	0,00	0,0%	0,12	9,3%	0,13	9,8%
#6	27	0,71	0,04	6,0%	0,00	0,0%	0,01	1,7%	0,04	6,0%
#7	27	0,81	0,06	7,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,06	7,3%

Alle Werte werden aus den Indexwerten berechnet (Cut-off anhand OD)

SA = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient

Hinweis: Die Standardabweichung wurde aus Darstellungsgründen auf zwei Dezimalstellen gerundet.

* Der Indexwert wird durch Division der Probenextinktion durch den Cut-off-Wert berechnet.

KREUZREAKTIVITÄT

Anhand von 115 Proben von Patienten mit nachgewiesenen Krankheiten (außer Denguefieber) wurde die analytische Spezifität des Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA untersucht. Die Proben stammten von Patienten mit Krankheiten, bei denen es potenziell zu einer Kreuzreaktivität kommen kann. Jede der in der Studie verwendeten Proben wurde im Hinblick auf die Diagnose vor der Analyse mit dem Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA charakterisiert.

Während der Testserie wurde bei Malaria-, West-Nil-Viren- und Rheumafaktorproben eine minimale Kreuzreaktivität beobachtet. Eine Übersicht der Ergebnisse finden Sie in Tabelle 3.

Tabelle 3
Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA – Kreuzreaktivitätsanalyse

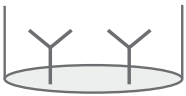
Krankheit	**Proben gesamt**	**Positives Ergebnis**
Epstein-Barr-Virus	10	(0/10)
Malaria	10	(1/10)
Influenza A	7	(0/7)
Influenza B	3	(0/3)
Antinukleäre Antikörper	30	(0/30)
Rheumafaktor	10	(3/10)
Hepatitis A	9	(0/9)
Leptospira	7	(0/7)
Salmonella typhi	9	(0/9)
Tsutsugamushi-Fieber	10	(0/10)
West-Nil-Virus	10	(2/10)
Gesamt	**115**	**(6/115)**

Haftungsausschluss:
Es wurden jegliche Vorkehrungen getroffen, um die diagnostische Leistung und die Genauigkeit dieses Produkts zu gewährleisten. Das Produkt wird jedoch außerhalb der Kontrolle des Herstellers und Vertriebshändlers verwendet und die Testergebnisse können dementsprechend auch durch Umgebungsbedingungen und/oder falsche Benutzung beeinträchtigt werden. Die Person, deren Probe diagnostiziert wurde, sollte für eine weiterführende Bestätigung des Testergebnisses einen Arzt aufsuchen.

Warnung:
Die Hersteller und Vertriebshändler dieses Produkts haften nicht für direkte, indirekte oder nachfolgende Verluste, Haftungsansprüche, Kosten oder Schäden, die sich aus einer falschen positiven oder negativen Diagnose unter Verwendung dieses Produktes ergeben oder damit verbunden sind.

Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA 01PE20/01PE21

ASSAYPLATTE
Anti-Human-IgM



ANTIGEN-FLÄSCHCHEN
Stabilisierte Dengue-Antigene

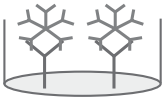


1 100 µl der verdünnten Proben und Kontrolllösungen auf die Assayplatte auftragen.

1 10 µl Antigen in 2,5 ml Antigen-Diluent geben und mischen. Verbleibendes unbenutztes Antigen sollte bei 2 – 8 °C gelagert werden.

2 Das erforderliche Volumen des verdünnten Antigens entnehmen, und mit der gleichen Menge MAb-HRP konjugiertes in einem separaten Glas- oder Polypropylen-Fläschchen mischen. UNBENUTZTES VERDÜNNTEST ANTIGEN ENTSORGEN.

3 Assayplatte abdecken und bei 37 ± 1 °C eine Stunde inkubieren.

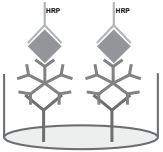


3 1 Stunde bei 20 – 25 °C inkubieren.



4 Assayplatte 6 Mal waschen. Die Antigen-MAb-Konjugiertes Lösung zum Mischen leicht drehen und 100 µl je Kavität auf die Assayplatte geben.

5 Assayplatte abdecken und bei 37 ± 1 °C eine Stunde inkubieren.



6 Assayplatte 6 Mal waschen. Nach Abschluss des letzten Spülzyklus 100 µl TMB je Kavität hinzugeben und zehn Minuten bei 20 - 25 °C inkubieren. Reaktion mit 100 µl Stopplösung anhalten und bei 450 nm ablesen (Referenzwert: 600 - 650 nm).

USO PREVISTO

Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA consente il rilevamento qualitativo degli anticorpi IgM contro l'antigene della Dengue nel siero e costituisce un valido strumento per la diagnosi di laboratorio clinico dei pazienti con sintomi clinici coerenti con la febbre Dengue. Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA deve essere utilizzato insieme a un'altra analisi sierologica per la Dengue.

INTRODUZIONE

Il virus Dengue, un flavivirus, è diffuso in vaste aree tropicali e subtropicali. Il vettore di trasmissione sono le zanzare, in particolare Aedes aegypti e Aedes albopictus. L'infezione da virus Dengue causa una serie di manifestazioni cliniche che comprendono patologie emorragiche, dalle forme asintomatiche a quelle letali. La febbre Dengue classica è caratterizzata dall'improvvisa insorgenza di febbre, forte emicrania, mialgia, artralgia ed eruzioni cutanee. Il comune decorso della patologia provocata dal virus è febbrile difasico con insonnia e anoressia, perdita del gusto o sensazione di amaro in bocca. La febbre emorragica Dengue e la sindrome da shock da Dengue sono complicanze gravi spesso associate a un'infezione da parte di un secondo sierotipo del virus. Il rilevamento degli anticorpi IgM contro il virus Dengue tramite ELISA è una valida procedura, in particolare nelle infezioni secondarie e successive in cui la frequenza delle complicanze è elevata. Gli anticorpi IgM nel siero possono essere rilevati nei pazienti affetti da Dengue già tre-cinque giorni dopo l'insorgenza della febbre e in genere persistono per 30 – 90 giorni, benché livelli rilevabili possano essere presenti otto mesi dopo l'infezione

PRINCIPIO

Gli anticorpi della classe IgM nel siero, se presenti, si combinano con gli anticorpi IgM antiumani legati alla superficie in polistirene delle strisce di analisi dei micropozzetti. Un pool concentrato di antigeni di Dengue 1-4 viene diluito al volume adeguato con il diluente antigene. Gli antigeni vengono prodotti utilizzando un sistema di espressione in cellule di insetto e immunopurificati servendosi di un anticorpo monoclonale specifico. Lo stesso volume di anticorpo monoclonale (MAb) coniugato con perossidasi di rafano viene aggiunto all'antigene diluito, consentendo la formazione di complessi antigene-MAb. Il siero residuo viene rimosso dalla piastra di analisi tramite il lavaggio e i complessi antigene-MAb vengono aggiunti alla piastra di analisi. Dopo l'incubazione, i micropozzetti vengono lavati e viene aggiunto un sistema di substrati incolori, tetrametilbenzidina/perossido di idrogeno (cromogeno TMB). Il substrato viene idrolizzato dall'enzima e il cromogeno diventa di colore blu. Dopo l'interruzione della reazione con l'acido, la TMB diventa gialla. Lo sviluppo del colore è indicativo della presenza degli anticorpi IgM anti-Dengue nel campione di analisi.

MATERIALI FORNITI

Nota: 01PE21 = 01PE20 x 5

1. Micropozzetti rivestiti di anticorpi - 1 micropozzetti (12 x 8 pozzetti) I micropozzetti sono rivestiti con anticorpi IgM antiumani. Pronti all'uso. I micropozzetti inutilizzati devono essere risigillati immediatamente e conservati con essiccante. Stabili a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.
2. Antigeni (ricombinanti) di Dengue 1-4 - Una fiala con tappo

trasparente da 150 µL (di colore **blu**) con antigeni del virus dengue 1, 2, 3 e 4 concentrati con conservante (Proclin™ 300 e gentamicina solfato). L'antigene diluito inutilizzato deve essere eliminato. L'antigene concentrato è stabile a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.

3. Tampone di lavaggio (20x) - Un flacone, 60 ml di concentrato 20x di soluzione salina tampone fosfato con Tween 20 e conservante (Proclin™ 300). A temperature inferiori il prodotto potrebbe cristallizzare. Per evitare il problema, incubare a 37°C finché non diventa trasparente. Miscelare bene. Diluire una parte di tampone per lavaggio con 19 parti di acqua distillata. Il tampone diluito può essere conservato per una settimana a una temperatura compresa tra 2 e 25°C.
4. Diluente campione - Due flaconi, 50 ml (**rosa**). Pronto all'uso. Soluzione salina tamponata con Tris con conservanti (Proclin™ 300) e additivi. Stabile a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.
5. Diluente antigene – Un flacone, 50 ml (**trasparente**). Pronto all'uso. Tampone fosfato contenente conservanti (Proclin™ 300 e gentamicina solfato). Stabile a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.
6. Anticorpo monoclonale coniugato con perossidasi di rafano - Un flacone, 7 ml (**giallo**). Pronto all'uso. Dell'anticorpo 6B6C-1 monoclonale coniugato con perossidasi di rafano, con conservante (Proclin™ 300) e diluente coniugato. Stabile a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.
7. Cromogeno TMB (TMB) - Un flacone, 15 ml. Pronto all'uso. TMB di lavoro. Stabile a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.
8. Controllo positivo - Una fiala con tappo **nero** da 200 µL di siero umano positivo per il virus dengue inattivato (contiene sodio azide e gentamicina solfato). Stabile a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.
9. Calibratore - Una fiala con tappo **arancione** da 400 µL di siero umano positivo per il virus dengue inattivato (contiene sodio azide e gentamicina solfato). Stabile a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.
10. Controllo negativo - Una fiala con tappo **bianco** da 200 µL di siero umano negativo per il virus dengue inattivato (contiene sodio azide e gentamicina solfato). Stabile a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla scadenza.
11. Soluzione di arresto - Un flacone con tappo rosso, 15 ml. Pronti all'uso. Acido fosforico 1M. Stabile a una temperatura compresa tra 2 e 25°C fino alla scadenza.

Proclin™ 300 è un marchio registrato di Rohm and Haas Company.

* Classificazione secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008:

Identificativo del prodotto	**Nome commerciale**	Antigeni (ricombinanti) di Dengue 1-4, Tampone di lavaggio, Diluente campione, Diluente antigene , Coniugato con perossidasi di rafano
	Sostanza pericolosa	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4- isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H -isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)
Classificazione		Corrosione/irritazione cutanea Categoria 2 Lesioni oculari gravi/irritazioni oculari gravi Categoria 2 Sensibilizzazione cutanea Categoria 1

Pittogramma dei pericoli	
Avvertenza	Attenzione
Indicazioni di pericolo	H315: Provoca irritazione cutanea H317: Può provocare una reazione allergica cutanea H319: Provoca grave irritazione oculare
Indicazioni di prudenza	
Prevenzione	P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol P264: Lavare accuratamente le mani dopo l'uso P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso
Risposta	P302+P352: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone P305+P351+P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare P321: Trattamento specifico P332+P313: In caso di irritazione della pelle: consultare un medico P333+P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico P337+P313: Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico P362: Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente P363: Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente
Smaltimento	P501: Smaltire il prodotto/recipiente in conformità con i regolamenti internazionali/nazionali/regionali/locali

MATERIALI AGGIUNTIVI NECESSARI MA NON FORNITI

1. Micropipettatori regolabili accurati con puntali monouso per pipette (capacità 5-1000 µl)
2. Acqua deionizzata
3. Sistema di lavaggio per micropiastre
4. Lettore di micropiastre con filtro da 450 nm
5. Timer
6. Cilindro graduato
7. Beuta
8. Piastra per microtitolazione o provette di analisi per diluizioni del siero

9. Provette o fiale in vetro o plastica per la diluizione dell'antigene

AVVERTENZE

1. Per uso diagnostico *in vitro*.
2. Tutto il materiale di origine umana usato nella preparazione dei controlli è stato testato per l'anticorpo del virus dell'immunodeficienza umana 1 e 2 (HIV 1 e 2), l'epatite C (HCV) e gli antigeni di superficie dell'epatite B ed è risultato negativo. Tuttavia, nessun metodo di analisi è totalmente sicuro e tutti i controlli umani e l'antigene devono essere manipolati come materiale potenzialmente infettivo. I centri per il controllo e la prevenzione delle malattie e gli istituti sanitari nazionali consigliano di gestire gli agenti potenzialmente infettivi al livello di biosicurezza 2[1].
3. Questo test deve essere eseguito solo nel siero. L'uso di sangue intero, plasma o altra matrice del campione non è stato stabilito.
4. Non utilizzare sieri itterici o lipidemici oppure sieri che mostrano emolisi o crescita microbica.
5. Non inattivare il siero tramite calore.
6. Prima di iniziare l'analisi, tutti i reagenti devono aver raggiunto la temperatura ambiente (20-25°C). L'analisi è influenzata dalle variazioni di temperatura. Non rimuovere i micropozzetti dal contenitore chiuso finché non raggiungono la temperatura ambiente (20-25°C).
7. Versare i reagenti direttamente dai flaconi usando puntali per pipette puliti. Il trasferimento dei reagenti può causare una contaminazione.
8. I micropozzetti inutilizzati devono essere risigillati immediatamente e conservati con essiccante. In caso contrario, si potrebbero ottenere risultati non validi.
9. Sistema di substrati:
   (a) Poiché la TMB è suscettibile alla contaminazione da parte di ioni metallici, evitare il contatto tra il sistema di substrati e superfici metalliche.
   (b) Evitare l'esposizione prolungata alla luce diretta.
   (c) Alcuni detergenti possono interferire con le prestazioni della TMB.
   (d) La TMB può assumere un colore azzurro. Ciò non influenza l'attività del substrato o i risultati dell'analisi.



10. Alcuni componenti del kit contengono sodio azide, che può reagire con tubature in piombo o rame formando azidi metalliche altamente esplosive. Quando si smaltiscono questi reagenti nelle tubature, sciacquare con abbondante acqua per evitare la formazione di azidi negli scarichi.
11. La sodio azide inibisce l'attività del coniugato. Utilizzare puntali per pipette puliti per l'aggiunta del coniugato per evitare la contaminazione con sodio azide da altri reagenti.

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il sangue ottenuto tramite venipuntura viene lasciato coagulare a temperatura ambiente (20-25°C), quindi viene centrifugato in conformità allo standard del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, standard approvato - Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3).
Il siero deve essere separato non appena possibile e conservato in

frigorifero (2-8°C) o congelato (≤-20°C) se non viene analizzato entro due giorni. Per la conservazione si sconsigliano congelatori autosbrinanti. Si consiglia di non utilizzare sieri itterici o sieri che mostrano emolisi, lipidemia o crescita microbica. CLSI fornisce raccomandazioni per la conservazione di campioni di sangue (standard approvato - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

PROCEDURA DEL TEST

Nota: assicurarsi che tutti i reagenti abbiano raggiunto la temperatura ambiente (20-25°C) prima di iniziare l'analisi. L'esecuzione del test al di fuori degli intervalli di tempo e temperatura indicati può produrre risultati non validi. Le analisi che non rientrano negli intervalli di tempo e temperatura stabiliti devono essere ripetute.

Prediluizione del siero

1. Rimuovere il numero richiesto di micropozzetti dal sacchetto in alluminio e inserirli nel supporto delle strisce. Sono necessari cinque micropozzetti per il controllo negativo (N), il controllo positivo (P) e il calibratore (CAL) in triplicato. Assicurarsi che i micropozzetti non utilizzati rimanenti vengano sigillati saldamente in un sacchetto di alluminio.
2. Utilizzando provette di analisi o una piastra per microtitolazione adeguate, diluire il controllo negativo, il controllo positivo, il calibratore e i campioni del paziente:
   (a) A 10 µl di siero aggiungere 990 µl di diluente campione. Miscelare bene.

   In alternativa,

   (b) A 10 µl di siero aggiungere 90 µl di diluente campione. Prelevare 20 µl del siero diluito e aggiungervi 180 µl di diluente campione. Miscelare bene.

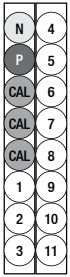
PROCEDURA ELISA

Vedere la figura allegata per un riepilogo del metodo.

(A) Antigene

1. Determinare il numero necessario di pozzetti per l'analisi. Diluire l'antigene 1/250 utilizzando il diluente antigene. Si consiglia di diluire, come minimo, 10 µl di antigene in 2,5 ml di diluente antigene, sufficiente per massimo cinque strisce (40 pozzetti). È necessario un volume di 0,5 ml di antigene diluito per ogni striscia. Una volta aggiunto l'antigene al diluente antigene, la soluzione diventa di colore azzurro. Assicurarsi che l'antigene concentrato inutilizzato mantenga una temperatura compresa tra 2 e 8°C.
2. Rimuovere il volume richiesto di antigene diluito e miscelare con un volume uguale di tracciante MAb in una fiala in vetro o polipropilene pulita. Miscelare delicatamente la soluzione tracciante antigene-MAb e conservarla a temperatura ambiente (20-25°C) finché non deve essere utilizzata. Eliminare l'antigene diluito inutilizzato.

(B) Piastra di analisi



1. Entro 10 minuti dalla miscelazione del tracciante MAb e dell'antigene diluito, pipettare 100 µl di campione paziente diluito e i controlli nei rispettivi micropozzetti della piastra di analisi.
2. Coprire la piastra e incubare per 1 ora a 37 ±1°C.
3. Lavare sei (6) volte con tampone di lavaggio diluito (fare riferimento alla procedura di lavaggio).
4. Miscelare la soluzione tracciante antigene-MAb prima del trasferimento. Pipettare 100 µl di complessi antigene-MAb dalla fiala di antigene ai pozzetti appropriati della piastra di analisi.
5. Coprire la piastra e incubare per 1 ora a 37 ±1°C.
6. Lavare sei (6) volte con tampone di lavaggio diluito (fare riferimento alla procedura di lavaggio)
7. Pipettare 100 µl di TMB in ciascun pozzetto.
8. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente (20-25°C), calcolando il tempo dalla prima aggiunta. Si sviluppa un colore blu.
9. Pipettare 100 µl di soluzione di arresto in tutti i pozzetti nella stessa sequenza e tempistica dell'aggiunta della TMB. Miscelare bene. Il colore blu diventa giallo.
10. Entro 30 minuti leggere l'assorbanza di ciascun pozzetto a una lunghezza d'onda di 450 nm con un filtro di riferimento a 600-650 nm.

Nota: se è disponibile uno spettrofotometro a doppia lunghezza d'onda, impostare il filtro di riferimento tra 600 e 650 nm. Se si leggono i micropozzetti a 450 nm senza filtro di riferimento, si potrebbero ottenere valori di assorbanza superiori a causa delle impurità.

PROCEDURA DI LAVAGGIO

Un lavaggio efficace per rimuovere campioni o componenti che non hanno formato complessi rappresenta un requisito fondamentale della procedura ELISA

A. Dispositivo di lavaggio automatico per piastre

(1) Aspirare completamente tutti i pozzetti.

(2) Riempire tutti i pozzetti fino al bordo (350 µl) durante il ciclo di lavaggio.

(3) Dopo sei (6) lavaggi, invertire la piastra e premere saldamente sulla carta assorbente in modo da rimuovere completamente il tampone di lavaggio.

(4) I dispositivi di lavaggio automatici per piastre devono essere sottoposti a manutenzione adeguata per garantire un lavaggio efficace. Seguire sempre le istruzioni di lavaggio del produttore.

B. Lavaggio manuale

(1) Smaltire il contenuto della piastra in contenitori per rifiuti appropriati.

(2) Riempire i pozzetti con tampone di lavaggio usando un flacone comprimibile (spruzzetta) adeguato. Evitare che il tampone di lavaggio formi bolle poiché potrebbero ridurre l'efficacia del lavaggio. Rimuovere immediatamente il tampone di lavaggio dai pozzetti.

(3) Riempire di nuovo i pozzetti con tampone di lavaggio e svuotarli immediatamente.

(4) Ripetere il passaggio (3) altre quattro volte, per un totale di sei (6) lavaggi con tampone di lavaggio.

(5) Dopo il lavaggio finale, svuotare il contenuto dei pozzetti e premere la piastra sulla carta assorbente in modo da rimuovere completamente il tampone di lavaggio.

CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO

Ogni kit contiene calibratore, controlli positivi e negativi. I valori accettabili sono disponibili nella scheda delle specifiche allegata. I controlli negativi e positivi sono destinati al monitoraggio di problemi rilevanti dei reagenti. Il controllo positivo non garantisce precisione al valore di cut-off dell'analisi. Il test non è valido e deve essere ripetuto se le letture dell'assorbanza dei controlli o del calibratore non soddisfano le specifiche. Se il test non è valido, i risultati del paziente non possono essere refertati.
Il controllo qualità (CQ) deve essere eseguito in conformità alle normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento e alle procedure CQ del laboratorio.
Si consiglia all'utente di fare riferimento a CLSI C24-A e 42 CFR 493.1256 per istruzioni sulle pratiche di controllo qualità appropriate.

CALCOLI

NOTA IMPORTANTE: il fattore di calibrazione è specifico per lotto e viene descritto dettagliatamente nella scheda delle specifiche. Ottenere il valore del fattore di calibrazione prima di iniziare i calcoli.

1. Calcolare l'assorbanza media dei triplicati del calibratore e moltiplicare per il fattore di calibrazione. Il risultato rappresenta il valore di cut-off.
2. Un valore di indice può essere calcolato dividendo l'assorbanza del campione per il valore di cut-off (calcolato nel passaggio (1) precedente).

In alternativa,

3. Le unità Panbio™ possono essere calcolate moltiplicando il valore di indice (calcolato nel passaggio (2) precedente) per 10.

Valore indice = assorbanza campione / Valore di cut-off

Esempio: assorbanza campione A = 0,949
Assorbanza campione B = 0,070

Assorbanza media del calibratore = 0,802
Fattore di calibrazione = 0,62
Valore di cut-off = 0,802 x 0,62 = 0,497

Campione A (0,949/0,497) = 1,91 valore di indice
Campione B (0,070/0,497) = 0,14 valore di indice

Unità Panbio™ = valore indice X 10

Campione A 1,91 X 10 = 19,1 unità Panbio™
Campione B 0,14 X 10 = 1,4 unità Panbio™

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il valore di cut-off è stato determinato utilizzando popolazioni endemiche dell'Asia sud-orientale/del Sud America e una popolazione locale del Queensland, Australia, con 208 campioni caratterizzati negativi (208/409), 91 positivi (91/409) e 110 campioni di controllo della patologia (110/409). Il valore di cut-off è stato calcolato tramite l'analisi TG-ROC (two-graph receiver operating characteristic)[2,3]. È stato selezionato un rapporto di cut-off di 1,0 in base al valore F ottimale per sensibilità e specificità.
Diagnosi dell'infezione da Dengue: Dengue IgM Capture ELISA determina il livello di anticorpi IgM anti-Dengue nel siero di un paziente. Un risultato positivo (>11 unità Panbio™) è indicativo di

un'infezione da Dengue primaria o secondaria attiva. Se è necessaria una differenziazione tra infezione primaria e secondaria, utilizzare Dengue Duo (07PE10) ELISA.

INDICE	UNITÀ Panbio™	RISULTATO
<0,9	<9	Negativo
0,9 – 1,1	9 – 11	Equivoco
>1,1	>11	Positivo

RISULTATO	INTERPRETAZIONE
Negativo	Nessun anticorpo IgM rilevabile. Il risultato non esclude l'infezione da Dengue. Occorre analizzare un campione aggiuntivo dopo 7-14 giorni se si sospetta un'infezione in fase iniziale. Per escludere un'infezione acuta è necessario eseguire altre analisi per Dengue.
Equivoco	I campioni equivoci devono essere ripetuti. I campioni che rimangono equivoci dopo la ripetizione dell'analisi devono essere ripetuti con un metodo alternativo oppure occorre prelevare un altro campione.
Positivo	Presenza di anticorpi IgM rilevabili. Per confermare l'infezione da Dengue devono essere eseguite altre analisi sierologiche per Dengue.

Di seguito viene riportato un modo consigliato per refertare i risultati ottenuti: "I risultati seguenti sono stati raccolti con Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. I valori ottenuti con metodi diversi non sono intercambiabili. L'ordine di grandezza del risultato misurato, oltre il valore di cut-off, non è indicativo della quantità totale di anticorpi presenti". Il risultato deve essere registrato come positivo, negativo o equivoco e non come valore numerico.

LIMITAZIONI DELL'ANALISI

1. La diagnosi clinica deve essere interpretata valutando i segni clinici e i sintomi del paziente. I risultati ottenuti con questo kit non hanno valenza diagnostica e devono essere considerati insieme ad altri dati clinici e ai sintomi del paziente.
2. La sieroepidemiologia della popolazione può variare nel tempo in diverse aree geografiche. Di conseguenza, il valore di cut-off può richiedere una regolazione in base agli studi locali.
3. Non è necessario eseguire lo screening della popolazione generale. Il valore predittivo positivo dipende dalla probabilità della presenza del virus. L'analisi deve essere eseguita esclusivamente su pazienti che presentano sintomi clinici o quando si sospetta un'esposizione.
4. La reattività crociata sierologica all'interno del gruppo dei flavivirus è comune (ovvero tra Dengue 1, 2, 3 e 4, encefalite della Murray Valley, encefalite giapponese, virus della febbre gialla e virus West Nile). È necessario escludere queste malattie prima di confermare la diagnosi.
5. Gli anticorpi eterofili rappresentano una causa nota di interferenza nei test immunologici4. Questi anticorpi contro IgG animali possono manifestare una reazione crociata con gli anticorpi reagenti e generare un segnale falso positivo. Ciò deve essere escluso prima di confermare la diagnosi.
6. Le caratteristiche prestazionali non sono state stabilite per la determinazione visiva dei risultati.

7. Questa analisi utilizza proteine ricavate dall'espressione genica negli insetti. La reattività crociata o l'interferenza degli anticorpi umani anti-insetto con i risultati del test non sono note.
8. Tutti i sieri che evidenziano un risultato positivo tramite il test Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA devono essere inviati a un laboratorio di riferimento per la conferma della positività e la registrazione epidemiologica.
9. Panbio™ Dengue Duo ELISA (07PE10) e Panbio™ Dengue IgG Capture-ELISA (01PE10) sono i test più comodi e utili per la determinazione di IgG. Viene utilizzato lo stesso metodo di acquisizione del test IgM ELISA, quindi sia IgM che IgG vengono determinati tramite metodo e diluizione del siero comuni.

VALORI ATTESI

L'infezione primaria da Dengue è caratterizzata dalla presenza di livelli significativi o crescenti di IgM 3-5 giorni dopo l'insorgenza dell'infezione; questi livelli elevati possono persistere per 3-5 mesi. L'infezione secondaria è caratterizzata dall'aumento degli anticorpi IgG specifici 1-2 giorni dopo l'insorgenza dell'infezione e, nella maggior parte dei casi (>70%), è questo si accompagna a un incremento di IgM. Nelle infezioni iniziali e in alcune infezioni secondarie, i livelli rilevabili di anticorpi IgM possono essere bassi. Alcuni pazienti potrebbero non mostrare livelli rilevabili di anticorpi nei primi sette-dieci giorni dopo l'infezione. Se i sintomi persistono, si consiglia di analizzare nuovamente i pazienti sette giorni dopo il primo campione.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Nell'ambito di uno studio interno, 255 sieri caratterizzati sono stati analizzati con Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. I sieri comprendevano 83 campioni sieronegativi endemici, 57 campioni di pazienti con infezione da Dengue primaria e 115 campioni di pazienti con infezione da Dengue secondaria. I risultati di Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA sono stati confrontati con lo stato della Dengue nei sieri per determinare sensibilità, specificità e concordanza dell'analisi rispetto allo stato sierologico dello Dengue. I dati sono riassunti nella Tabella 1.

Tabella 1
Sensibilità e specificità sierologica IgM Dengue di Panbio™ ELISA vs. stato della Dengue

	Panbio™ ELISA			
Stato della Dengue	**Positivo**	**Equivoco[a]**	**Negativo**	**Totale**
Sieronegativo IgM (-) tramite ELISA	0	0	83	83
Infezione primaria IgM (+) tramite HAI	41	1	1	43
Infezione primaria IgM (+) tramite ELISA	13	0	1	14
Infezione secondaria IgG (+) tramite HAI	41	11	34	86
Infezione secondaria IgG (+) tramite ELISA	23	0	6	29
Totale	**118**	**12**	**125**	**255**

			95% IC*
Sensibilità sierologica (primaria)	= 54/57	= 94,7%	85,4 – 98,9%
Sensibilità sierologica (secondaria)	= 64/115	= 55,7%	46,6 – 64,7%
Specificità sierologica (negativo)	= 83/83	= 100,0%	95,7 – 100,0%
Concordanza sierologica (esclusi i sieri secondari)	= 137/140	= 97,9%	93,7 – 99,6%

[a] Non è stato eseguito un nuovo test dei campioni equivoci, poiché i campioni non erano disponibili.

* Intervallo di confidenza

RIPRODUCIBILITÀ

La riproducibilità del kit Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA è stata stabilita analizzando 7 sieri 3 volte ciascuno, con tre numeri di lotto del kit Panbio™, in tre diversi giorni. I valori della precisione intra-analisi, tra i giorni, tra i lotti e totale sono stati stimati tramite l'analisi della varianza (ANOVA tipo II) e sono riportati nella Tabella 2.

Tabella 2
Misure di precisione di Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA (utilizzando il valore di indice*)

			Intra		Tra giorni		Tra lotti		Totale	
Campione	**n**	***Media**	***DS**	**CV**	***DS**	**CV**	***DS**	**CV**	***DS**	**CV**
Positivo	27	2,87	0,12	4,3%	0,05	1,7%	0,62	21,6%	0,53	18,6%
Cut-off	27	1,00	0,06	5,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,05	5,3%
Negativo	27	0,36	0,06	16,7%	0,00	0,0%	0,16	45,2%	0,15	41,0%
#1	27	6,19	0,31	5,1%	0,12	1,9%	0,41	6,7%	0,48	7,7%
#2	27	5,91	0,21	3,6%	0,11	1,9%	0,52	8,8%	0,49	8,3%
#3	27	1,25	0,05	4,1%	0,00	0,0%	0,10	7,9%	0,10	7,7%
#4	27	1,33	0,07	5,4%	0,03	1,9%	0,07	5,4%	0,10	7,2%
#5	27	1,30	0,08	6,1%	0,00	0,0%	0,12	9,3%	0,13	9,8%
#6	27	0,71	0,04	6,0%	0,00	0,0%	0,01	1,7%	0,04	6,0%
#7	27	0,81	0,06	7,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,06	7,3%

Tutti i valori sono calcolati dai valori di indice (cut-off con DO)
DS = deviazione standard; CV = coefficiente di variazione

Nota: i risultati della deviazione standard sono stati approssimati a due cifre decimali per scopi di tabulazione.

* Il valore di indice viene calcolato dividendo l'assorbanza del campione per il valore di cut-off

REATTIVITÀ CROCIATA

È stato analizzato un gruppo di 115 campioni di pazienti con patologie confermate diverse dalla febbre Dengue per stabilire la specificità analitica di Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA. I campioni sono stati prelevati da pazienti affetti da malattie con potenziale reattività crociata. Ogni campione incluso nello studio è stato caratterizzato

relativamente alla diagnosi della patologia prima dell'analisi con Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA.
È stata osservata una reattività crociata minima per i campioni di malaria, virus West Nile e fattore reumatoide analizzati e provenienti dal gruppo di patologie. Per un riepilogo dei risultati, fare riferimento alla Tabella 3.

Tabella 3
Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA – Analisi della reattività crociata

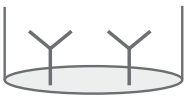
Tipo di malattia	Campioni totali	Risultato positivo
Virus di Epstein-Barr	10	(0/10)
Malaria	10	(1/10)
Influenza A	7	(0/7)
Influenza B	3	(0/3)
Anticorpo anti-nucleare	30	(0/30)
Fattore reumatoide	10	(3/10)
Epatite A	9	(0/9)
Leptospirosi	7	(0/7)
Salmonella typhi	9	(0/9)
Tifo fluviale giapponese	10	(0/10)
Virus West Nile	10	(2/10)
Totale	**115**	**(6/115)**

Disclaimer sul prodotto:
Sebbene siano state adottate tutte le precauzioni possibili per assicurarne l'affidabilità diagnostica e la precisione, il prodotto viene usato al di fuori del controllo del produttore e del distributore, di conseguenza i risultati del test potrebbero essere influenzati da fattori ambientali e/ o da errori dell'utente. Il soggetto che riceve la diagnosi dovrebbe consultare un medico per un'ulteriore conferma del risultato del test.

Avvertenza:
I produttori e i distributori del prodotto non saranno responsabili di eventuali danni diretti o indiretti, perdite, spese, reclami o pretese derivanti o correlati a una diagnosi (positiva o negativa) non corretta ottenuta mediante l'utilizzo del prodotto.

Panbio™ Dengue IgM Capture ELISA 01PE20/01PE21

PIASTRA DI ANALISI
IgM antiumano



1 Aggiungere 100 µL di campioni diluiti e di controlli alla piastra di analisi.

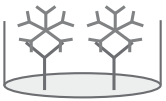
FIALA ANTIGENE
Antigeni Dengue stabilizzati



1 Aggiungere 10 µL di antigene in 2,5 mL di diluente antigene e miscelare. L'antigene concentrato inutilizzato deve essere conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

2 Rimuovere il volume richiesto di antigene diluito e miscelare con un volume uguale di MAb coniugato in una fiala in vetro o polipropilene separata. ELIMINARE L'ANTIGENE DILUITO INUTILIZZATO.

3 Coprire la piastra e incubare per 1 ora a 37 ± 1 °C.

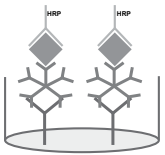


3 Incubare per 1 ora a 20-25 °C.



4 Lavare la piastra di analisi 6 volte. Dopo una delicata rotazione per miscelare la soluzione antigene-MAb coniugato, trasferire 100 µL per pozzetto di questa soluzione alla piastra di analisi.

5 Coprire la piastra e incubare per 1 ora a 37 ± 1 °C.



6 Lavare la piastra di analisi 6 volte. Dopo il lavaggio finale, aggiungere 100 µL di TMB per pozzetto e incubare a 20-25 °C per 10 minuti. Interrompere la reazione con 100 µL di soluzione di arresto e leggere a 450 nm (riferimento 600-650 nm).

GLOSSARY OF SYMBOLS / GLOSSAIRE DES SYMBOLES / GLOSARIO DE SÍMBOLOS /GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS / SYMBOLVERZEICHNIS / GLOSSARIO DEI SIMBOLI

	Manufacturer / Fabricant / Fabricante / Fabricante / Hersteller / Fabbricante
EC REP	Authorized Representative / Représentant autorisé / Representante autorizado / Representante autorizado / Autorisierter Vertreter / Rappresentante autorizzato
REF	Catalogue Number / Numéro de référence / Número de catálogo / Número de catálogo / Bestellnummer / Numero di catalogo
IVD	For *in vitro* diagnostic use only / Pour diagnostic *in vitro* uniquement / Solo para uso de diagnóstico *in vitro* / Somente para uso de diagnóstico *in vitro* / Für die *in vitro* Diagnostik nur / Per uso diagnostico *in vitro* solo
	Date of manufacture / Date de fabrication / Fecha de elaboración / Data de fabrico / Herstellungsdatum / Data di produzione
LOT	Lot Number / Numéro de lot / Número de Lote / Número de lote / Lot-Nummer / Numero di lotto

	Temperature Limitation / Limites de température / Límite de temperatura / Limite de temperatura / Temperaturgrenze / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for X tests / Permet de réaliser X tests / Contenido suficiente para X pruebas / Contém o suficiente para X testes / Inhalt ausreichend für 'n' Ansätze / Contenuto sufficiente per X analisi
	Use By / Date de péremption / Fecha de caducidad / Utilizar até / Verwendbar bis / Data di scadenza
	Keep dry / Conserver au sec / Mantén-gase seco / Conservar seco / Vor Nässe schützen / Conservare in un luogo asciutto
	Keep away from sunlight / Conserver à l'abri de la lumière du soleil / Manténgase fuera de la luz del sol / Manter afastado da luz solar / Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen / Tenere al riparo dalla luce solare

	Biological Risks / Risques biologiques / Riesgos biológicos / Riscos biológicos / Biologische Risiken / Rischi biologici
	Do not use if package is damaged / Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé / No utilizar si el envase está dañado / Não utilizar se a embalagem estiver danificada / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist / Non utilizzare se la confezione è danneggiata
CE	CE marking according to IVD Medical Devices Directive 98/79/EC / Marquage CE conformément à la directive sur les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* 98/79/CE / Marcado CE conforme a la Directiva 98/79/CE relativa a los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro* / Marcação CE de acordo com a Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro* / CE-Kennzeichnung gemäß der IVD-Richtlinie 98/79/EG / Marchio CE in conformità alla Direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*
	Caution / Attention / Precaución / Atenção / Achtung / Attenzione
	Instructions for use / Mode d'emploi / Instrucciones de uso / Instruções de uso / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso

	This way up / De cette façon jusqu'à / Por este camino / este lado para cima / Diesen Weg hoch / Su questa via
MW Ag	Antigen Coated Microwells / Micropuits recouverts d'antigènes / Micropocillos recubiertos de antígenos / Micropoços revestidos com antigênios / Antigenbeschichtete Mikrotiterstreifen / Micropozzetti rivestiti di antigeni
MW Ab	Antibody Coated Microwells / Micropuits recouverts d'anticorps / Micropocillos recubiertos de anticuerpos / Micropoços revestidos com anticorpos / Antikörperbeschichtete Mikrotiterstreifen / Micropozzetti rivestiti di anticorpi
CONTROL +	Positive Control / Contrôle positif / Control positivo / Controlo positivo / Positiv-Kontrolle / Controllo positivo
CONTROL –	Negative Control / Contrôle négatif / Control negativo / Controlo negativo / Negativ-Kontrolle / Controllo negativo
CONTROL R	Reactive Control / Contrôle réactif / Control reactivo / Controlo reativo / Reaktionskontrolle / Controllo reattivo
CONTROL CAL	Calibrator / Étalon / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Calibratore

SAMP ABS	Sample Absorbent / Absorbant d'échantillon / Absorbente de la muestra / Absorvente da amostra / Dengue-Kalibrator / Assorbente campione
CONJ	Conjugate / Conjugué / Conjugado / Conjugado / Konjugat / Coniugato
SAMP DIL	Sample Diluent / Diluant d'échantillon / Diluyente para muestra / Diluente da amostra / Probenabsorbens / Diluente campione
Ag DIL	Antigen Diluent / Diluant d'antigène / Diluyente para antígeno / Diluente de antigénio / Antigenverdünnungspuffer / Diluente antigene

Ag DEN	Dengue 1-4 Antigen / Antigène de la dengue des sérogroupes 1 à 4 / Antígenos 1 a 4 del dengue / Antigénio de dengue 1-4 / Dengue 1-4 Antigen / Antigene Dengue 1-4
WASH BUF 20 X	Wash Buffer 20x / Tampon de lavage (20x) / Tampón de lavado 20x / Tampão de lavagem (20x) / Waschpuffer (20x) / Tampone di lavaggio 20x
SUBS TMB	Substrate Tetramethylbenzidine / Substrat de tétraméthylbenzidine / Sustrato de tetrametilbencidina / Substrato de tetrametilbencidina / Substrat Tetramethylbezidin / Substrato tetrametilbenzidina (TMB)
SOLN STOP	Stop Solution / Solution d'arrêt / Solución de parada / Solução de paragem / Stopplösung / Soluzione di arresto

TROUBLESHOOTING GUIDE

Problem	Possible cause	Investigation / Actions
High absorbances	1. Cross-contamination from other specimens.	▶ Repeat assay taking care when washing and pipetting.
	2. Insufficient or inefficient washing or reading.	▶ Check washer efficiency
	3. Wavelength of filter not correct.	▶ Check that the wavelength is 450 nm. If a dual wavelength spectrophotometer is available, set the reference filter between 600-650 nm.
	4. High assay background.	▶ Repeat assay and include a well that contains only Sample Diluent or Sample Absorbent (i.e. a blank well).
	5. Contaminated TMB.	▶ Check that TMB is colourless or faint blue.
	6. Incubation time too long or incubation temperature too high.	▶ Check incubation time and temperature. ▶ Check incubator is at the correct temperature.
	7. Incorrect dilution of serum.	▶ Repeat assay, ensuring correct serum dilution is used.

Problem	Possible cause	Investigation / Actions
Low absorbances	1. Incubation time too short or incubation temperature too low.	▶ Ensure time and temperature of assay incubation are correct. ▶ Check incubator is set at the correct temperature.
	2. Incorrect dilution or pipetting of sera.	▶ Repeat assay ensuring correct dilutions and volumes are used. ▶ Ensure controls are sufficiently mixed.
	3. Incorrect filter wavelength.	▶ Check the wavelength is set at 450 nm. If a dual wavelength spectrophotometer is available, set the reference filter between 600-650 nm.
	4. Contaminated Conjugate solution.	▶ Dispense Conjugate directly from the bottle using a clean pipette tip; avoid transferring Conjugate to another container if possible. ▶ Do not return unused Conjugate to bottle. ▶ Ensure all pipettes and probes used to dispense the Conjugate are clean and free from serum, detergent and bleach.
	5. Kit has expired.	▶ Check expiration date of kit and do not use if expired.
	6. Air blank reading high.	▶ Investigate causes of high background absorbance.

Problem	Possible cause	Investigation / Actions
Low absorbances	7. Incorrect storage of kit.	► Ensure kit is stored at 2-8°C, plate is sealed in foil pouch and desiccant sachet is blue / purple.
	8. Kit reagents not equilibrated at room temperature.	► Allow sufficient time for reagents to equilibrate to room temperature prior to assay.
	9. Incorrect reagents used.	► Check the reagents used match those listed on the specification sheet.
	10. Over-washing of plate (e.g. inclusion of a long soak step).	► Repeat assay using recommended wash procedure.
	11. Under-washing of plate following serum incubation step (i.e. insufficient washing during wash step).	► Repeat assay using recommended wash procedure.
Poor duplicates	1. Poor mixing of samples.	► Mix reagents gently and equilibrate to room temperature.
	2. Poor pipette precision.	► Calibration may need to be checked. ► Check pipetting technique – change pipette tip for each sample and ensure excess liquid is wiped from the outside of the tip.

Problem	Possible cause	Investigation / Actions
Poor duplicates	3. Addition of reagents at inconsistent timing intervals; reagent addition takes too long, air bubbles when adding reagents.	► Use consistent timing when adding reagents. ► Ensure all dilutions are made before commencing addition to plate. ► Improve pipetting technique and speed.
	4. Inefficient washing - Wash Buffer left in wells, inconsistent washing, inadequate washing.	► Tap out Wash Buffer after washing. ► Check wells are sufficiently and uniformly filled & aspirated when washing.
	5. Reader not calibrated or warmed up prior to plate reading.	► Check reader precision. ► Check reader manual to ascertain warm-up time of instrument.
	6. Optical pathway not clean.	► Gently wipe bottom of plate. ► Check reader light source and detector are clean.
	7. Spillage of liquid from wells.	► Repeat assay, taking care not to knock the plate or splash liquid.
	8. Serum samples exhibit microbial growth, haemolysis or lipaemia.	► It is not recommended to use serum samples exhibiting microbial growth, haemolysis or lipaemia.
	9. Uneven well volumes due to evaporation.	► Cover plate with a lid or plate sealer (not provided).

Problem	Possible cause	Investigation / Actions
All wells yellow	1. Contaminated TMB.	► Check TMB is colourless or faint blue.
	2. Contaminated reagents (e.g. Conjugate, Wash Buffer).	► Check reagents for turbidity.
	3. Incorrect dilution of serum.	► Repeat assay, ensuring correct serum dilution is used.
	4. Incorrect storage of kit.	► Ensure kit is stored at 2-8°C, plate is sealed in foil pouch and desiccant sachet is blue / purple.
	5. Inefficient washing - Wash Buffer left in wells, inconsistent washing, inadequate washing.	► Tap out Wash Buffer after washing. ► Check wells are sufficiently and uniformly filled and aspirated when washing.
	6. If Conjugate reconstitution is required - Conjugate reconstituted incorrectly.	► Repeat assay ensuring Conjugate is reconstituted according to assay method.

Problem	Possible cause	Investigation / Actions
All wells negative	1. Test not performed correctly – correct reagents not added or not added in the correct sequence.	► Check procedure and check for unused reagents. ► Ensure that Stop Solution was not added before Conjugate or TMB. ► Ensure that serum was diluted in correct Sample Diluent; e.g. do not use Sample Absorbent for an IgG ELISA.
	2. Contaminated Conjugate solution.	► Dispense Conjugate directly from the bottle using a clean pipette tip; avoid transferring Conjugate to another container if possible. ► Do not return unused Conjugate to bottle. ► Ensure all pipettes and probes used to dispense the Conjugate are clean and free from serum, detergent and bleach.
	3. Over-washing of plate (e.g. inclusion of a long soak step).	► Repeat assay using recommended wash procedure.
	4. Incorrect storage of kit.	► Ensure kit is stored at 2-8°C, plate is sealed in foil pouch and desiccant sachet is blue / purple.
	5. Wash Buffer made up with Stop Solution instead of Wash Buffer Concentrate.	► Ensure Wash Buffer is made up correctly.

MANUEL DE DÉPANNAGE

Problème	Cause possible	Recherche/Actions
Valeurs d'absorbance élevées	1. Contamination croisée par d'autres échantillons.	► Refaire le test en réalisant le lavage et le pipetage avec soin.
	2. Insuffisance ou inefficacité du lavage ou des mesures.	► Vérifier l'efficacité du laveur.
	3. Longueur d'onde du filtre incorrecte.	► Vérifier que la longueur d'onde est de 450 nm. Si un spectrophotomètre à double longueur d'onde est disponible, régler le filtre de référence entre 600 et 650 nm.
	4. Bruit de fond du test élevé.	► Refaire le test et inclure un puits contenant uniquement du diluant d'échantillon ou de l'absorbant d'échantillon (c'est-à-dire un blanc).
	5. Chromogène TMB contaminé.	► Vérifier que le chromogène TMB est incolore ou bleu pâle.
	6. Temps d'incubation trop long ou température d'incubation trop élevée.	► Vérifier le temps et la température de l'incubation. ► Vérifier que l'incubateur est à la bonne température.
	7. Dilution de sérum incorrecte.	► Refaire le test, en s'assurant d'utiliser la bonne dilution de sérum.
Valeurs d'absorbance basses	1. Temps d'incubation trop court ou température d'incubation trop basse.	► S'assurer que le temps et la température d'incubation du test sont corrects. ► Vérifier que l'incubateur est réglé à la bonne température.
	2. Dilution ou pipetage du sérum incorrect.	► Refaire le test après avoir vérifié que les dilutions et les volumes utilisés sont corrects. ► S'assurer que les contrôles sont suffisamment mélangés.
	3. Longueur d'onde du filtre incorrecte.	► Vérifier que la longueur d'onde est réglée sur 450 nm. Si un spectrophotomètre à double longueur d'onde est disponible, régler le filtre de référence entre 600 et 650 nm.
	4. Solution de conjugué contaminée.	► Distribuer le conjugué en le prélevant directement dans le flacon à l'aide d'un embout de pipette propre ; éviter de transférer le conjugué dans un autre récipient. ► Ne pas reverser le conjugué inutilisé dans le flacon. ► S'assurer que toutes les pipettes et sondes utilisées pour la distribution du conjugué sont propres et exemptes de sérum, de détergent et d'eau de Javel.

Problème	Cause possible	Recherche/Actions
Valeurs d'absorbance basses	5. Date de péremption du kit dépassée.	► Vérifier la date de péremption du kit et ne pas utiliser si elle est dépassée.
	6. Mesures à blanc élevées.	► Rechercher les causes de l'absorbance élevée du bruit de fond.
	7. Conditions de conservation du kit inappropriées.	► S'assurer que le kit est conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C, que la plaque est dans une pochette en aluminium bien fermée et que le sachet contenant l'agent déshydratant est bleu/violet.
	8. Réactifs du kit non stabilisés à température ambiante.	► Laisser suffisamment de temps aux réactifs pour se stabiliser à température ambiante avant de commencer le test.
	9. Utilisation de réactifs incorrects.	► Vérifier que les réactifs utilisés correspondent à ceux répertoriés sur la fiche technique.
	10. Lavage de la plaque excessif (par ex., longue étape de trempage).	► Refaire le test en exécutant la procédure de nettoyage recommandée.
Valeurs d'absorbance basses	11. Lavage de la plaque insuffisant après l'étape d'incubation du sérum (c'est-à-dire lavage insuffisant durant l'étape de lavage).	► Refaire le test en exécutant la procédure de nettoyage recommandée.
Échantillons dupliqués insuffisants	1. Mélange des échantillons insuffisant.	► Mélanger doucement les réactifs et les amener à température ambiante.
	2. Précision de la pipette insuffisante.	► Une vérification de l'étalonnage peut être nécessaire. ► Vérifier la technique de pipetage ; changer l'embout de la pipette pour chaque échantillon et bien essuyer tout excès de liquide sur la surface extérieure de l'embout.
	3. Ajout de réactifs à intervalles irréguliers ; ajout de réactifs trop long, formation de bulles d'air lors de l'ajout de réactifs.	► Ajouter les réactifs à intervalles réguliers. ► Attendre la fin de toutes les dilutions avant d'ajouter des produits dans la plaque. ► Améliorer la technique de pipetage et augmenter la vitesse.

Problème	Cause possible	Recherche/Actions
Échantillons dupliqués insuffisants	4. Lavage inefficace - Résidus de tampon de lavage dans les puits, lavage irrégulier, lavage inadéquat.	▶ Après lavage, tapoter sur les puits/la plaque pour éliminer tout résidu de tampon de nettoyage. ▶ Vérifier que le remplissage et l'aspiration des puits soient suffisants et uniformes lors du lavage.
	5. Lecteur non étalonné ou non préchauffé avant lecture de la plaque.	▶ Vérifier la précision du lecteur. ▶ Consulter le manuel du lecteur afin de vérifier le temps de préchauffage de l'instrument.
	6. Présence de saletés sur la trajectoire optique.	▶ Essuyer délicatement le fond de la plaque. ▶ Vérifier que la source lumineuse et le détecteur du lecteur sont propres.
	7. Renversement du liquide contenu dans les puits.	▶ Refaire le test en prenant soin de ne pas heurter la plaque ni renverser du liquide.
	8. Échantillons de sérum hémolysé, lipémique ou présentant une prolifération microbienne.	▶ Il est déconseillé d'utiliser des échantillons de sérum hémolysé, lipémique ou présentant une prolifération microbienne.
	9. Volumes des puits inégaux du fait de l'évaporation.	▶ Protéger la plaque à l'aide d'un couvercle ou d'un produit isolant adapté (non fourni).

Problème	Cause possible	Recherche/Actions
Tous les puits sont jaunes	1. Chromogène TMB contaminé.	▶ Vérifier que le chromogène TMB est incolore ou bleu pâle.
	2. Réactifs contaminés (par ex. conjugué, tampon de lavage).	▶ Vérifier la turbidité des réactifs.
	3. Dilution de sérum incorrecte.	▶ Refaire le test, en s'assurant d'utiliser la bonne dilution de sérum.
	4. Conditions de conservation du kit inappropriées.	▶ S'assurer que le kit est conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C, que la plaque est dans une pochette en aluminium bien fermée et que le sachet contenant l'agent déshydratant est bleu/violet.
	5. Lavage inefficace - Résidus de tampon de lavage dans les puits, lavage irrégulier, lavage inadéquat.	▶ Après lavage, tapoter sur les puits/la plaque pour éliminer tout résidu de tampon de nettoyage. ▶ Vérifier que le remplissage et l'aspiration des puits soient suffisants et uniformes lors du lavage.
	6. Reconstitution du conjugué incorrecte, le cas échéant.	▶ Refaire le test en s'assurant que le conjugué est reconstitué conformément à la méthode de test.

Problème	Cause possible	Recherche/Actions
Tous les puits sont négatifs	1. Test mal réalisé - réactifs requis non ajoutés ou ajoutés dans le désordre.	► Vérifier la procédure et les réactifs inutilisés. ► S'assurer que la solution d'arrêt n'a pas été ajoutée avant le conjugué ou le TMB. ► S'assurer que le sérum a été dilué dans le diluant d'échantillon correct. Par ex., ne pas utiliser l'absorbant d'échantillon pour un test ELISA de capture des IgG.
	2. Solution de conjugué contaminée.	► Distribuer le conjugué en le prélevant directement dans le flacon à l'aide d'un embout de pipette propre ; éviter de transférer le conjugué dans un autre récipient. ► Ne pas reverser le conjugué inutilisé dans le flacon. ► S'assurer que toutes les pipettes et sondes utilisées pour la distribution du conjugué sont propres et exemptes de sérum, de détergent et d'eau de Javel.
	3. Lavage de la plaque excessif (par ex., longue étape de trempage).	► Refaire le test en exécutant la procédure de nettoyage recommandée.

Problème	Cause possible	Recherche/Actions
Tous les puits sont négatifs	4. Conditions de conservation du kit inappropriées.	► S'assurer que le kit est conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C, que la plaque est dans une pochette en aluminium bien fermée et que le sachet contenant l'agent déshydratant est bleu/violet.
	5. Tampon de lavage composé d'une solution d'arrêt au lieu d'un concentré de tampon de lavage.	► S'assurer de la bonne composition du tampon de lavage.

GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Valores de absorbancia altos	1. Contaminación cruzada con otras muestras.	► Repetir la prueba teniendo cuidado al lavar y pipetear.
	2. Lavado o lectura insuficiente o ineficaz.	► Comprobar la eficacia del dispositivo de lavado.
	3. La longitud de onda del filtro no es correcta.	► Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600-650 nm.
	4. Nivel de fondo alto.	► Repetir el ensayo e incluir un pocillo que solo contenga diluyente para muestra o absorbente de la muestra (es decir, un pocillo de blanco).
	5. TMB contaminada.	► Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	6. Tiempo de incubación demasiado largo o temperatura de incubación demasiado alta.	► Comprobar el tiempo y la temperatura de incubación. ► Comprobar que la incubadora está a la temperatura correcta.
Valores de absorbancia altos	7. Dilución incorrecta del suero.	► Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
Valores de absorbancia bajos	1. Tiempo de incubación demasiado corto o temperatura de incubación demasiado baja.	► Asegurarse de que el tiempo y la temperatura de incubación del ensayo son correctos. ► Comprobar que la incubadora está a la temperatura correcta.
	2. Dilución o pipeteado incorrecto del suero.	► Repetir el ensayo asegurándose de usar las diluciones y los volúmenes correctos. ► Asegurarse de que los controles estén bien mezclados.
	3. Longitud de onda del filtro incorrecta.	► Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600-650 nm.

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Valores de absorbancia bajos	4. Solución del conjugado contaminada.	► Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ► No devolver el conjugado no utilizado al frasco. ► Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
Valeurs d'absorbance basses	5. El kit ha caducado.	► Comprobar la fecha de caducidad del kit y no usarlo si está caducado.
	6. Lectura alta del blanco de aire.	► Investigar las causas de la alta absorbancia del fondo.
	7. Almacenamiento incorrecto del kit.	► Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	8. Los reactivos del kit no se han estabilizado a temperatura ambiente.	► Esperar suficiente tiempo a que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente antes del ensayo.

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Valeurs d'absorbance basses	9. Uso de reactivos incorrectos.	► Comprobar que los reactivos utilizados coinciden con los indicados en la hoja de especificaciones.
	10. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	► Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	11. Lavado insuficiente de la placa después del paso de incubación del suero (p. ej., lavado insuficiente durante el paso de lavado).	► Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
Duplicados deficientes	1. Mezcla de las muestras insuficiente.	► Mezclar los reactivos suavemente y estabilizar a temperatura ambiente.
	2. Baja precisión de la pipeta.	► Puede que haya que comprobar la calibración. ► Comprobar la técnica de pipeteado. Cambiar la punta de la pipeta para cada muestra y asegurarse de retirar el líquido sobrante del exterior de la punta.

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Duplicados deficientes	3. Adición de reactivos a intervalos no constantes; la adición del reactivo es demasiado lenta, se forman burbujas de aire al agregar los reactivos.	► Usar intervalos constantes durante la adición de los reactivos. ► Asegurarse de realizar todas las diluciones antes de empezar a añadir nada a la placa. ► Mejorar la técnica y la velocidad de pipeteado
	4. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	► Dar unos golpecitos para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ► Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	5. Lector no calibrado o precalentado antes de la lectura de la placa.	► Comprobar la precisión del lector. ► Consultar el manual del lector para confirmar el tiempo de precalentamiento del instrumento.
	6. La óptica no está limpia.	► Limpiar suavemente la parte inferior de la placa. ► Comprobar que la fuente de luz y el detector del lector están limpios.
	7. Derrame de líquido de los pocillos.	► Repetir la prueba, teniendo cuidado de no golpear la placa ni salpicar líquido.

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Duplicados deficientes	8. Las muestras de suero tienen crecimiento microbiano, hemólisis o lipidemia.	► No se recomienda usar muestras de suero con signos de crecimiento microbiano, hemólisis o lipidemia.
	9. Los volúmenes de los pocillos son desiguales debido a la evaporación.	► Cubrir la placa con una tapa o un sellador de placas (no suministrados).
Todos los pozos son amarillos	1. TMB contaminada.	► Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	2. Reactivos contaminados (conjugado o tampón de lavado).	► Comprobar si los reactivos presentan turbidez.
	3. Dilución incorrecta del suero.	► Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	► Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Todos los pozos son amarillos	5. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	► Dar unos golpecitos para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ► Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	6. Si es necesario reconstituir el conjugado - Conjugado reconstituido incorrectamente.	► Repetir la prueba comprobando que el conjugado se reconstituye según el método del ensayo.
Todos los pocillos son negativos	1. La prueba no se realizó correctamente. No se agregaron los reactivos correctos o no se agregaron en el orden correcto.	► Consultar el procedimiento y comprobar si hay reactivos sin usar. ► Comprobar que la solución de parada no se haya agregado antes que el conjugado o la TMB. ► Comprobar que el suero se diluyó con el diluyente para muestra correcto; p. ej., no usar absorbente de la muestra para un ensayo ELISA de IgG.

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Todos los pocillos son negativos	2. Solución del conjugado contaminada.	► Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ► No devolver el conjugado no utilizado al frasco. ► Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
	3. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	► Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	► Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	5. El tampón de lavado se ha hecho con solución de parada en lugar de tampón de lavado concentrado.	► Comprobar que el tampón de lavado se ha preparado correctamente.

GUIA PARA RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Problema	Causa possível	Investigação/Medidas
Absorvâncias elevadas	1. Contaminação cruzada a partir de outras amostras.	► Repita o ensaio tomando cuidado durante a lavagem e pipetagem.
	2. Lavagem ou leitura insuficiente ou ineficaz.	► Verifique a eficácia do lavador.
	3. Comprimento de onda do filtro incorreto.	► Certifique-se de que o comprimento de onda é de 450 nm. Se estiver disponível um espetrofotómetro com comprimento de onda duplo, defina o filtro de referência entre 600 e 650 nm.
	4. Fundo de ensaio elevado.	► Repita o ensaio e inclua um poço que contenha apenas Diluente da amostra ou Absorvente da amostra (ou seja, um poço em branco).
	5. TMB contaminado.	► Certifique-se de que o TMB é incolor ou azul ténue.
	6. Tempo de incubação demasiado longo ou temperatura de incubação demasiado elevada.	► Verifique o tempo e a temperatura de incubação. ► Certifique-se de que a incubadora se encontra à temperatura correta.
Absorvâncias elevadas	7. Diluição incorreta do soro.	► Repita o ensaio, garantindo a utilização de uma diluição de soro correta.
Absorvâncias baixas	1. Tempo de incubação demasiado curto ou temperatura de incubação demasiado baixa.	► Certifique-se de que o tempo e a temperatura de incubação do ensaio estão corretos. ► Certifique-se de que a incubadora se encontra à temperatura correta.
	2. Diluição ou pipetagem incorreta dos soros.	► Repita o ensaio, garantindo a utilização de diluições e volumes corretos. ► Certifique-se de que os controlos estão suficientemente misturados.
	3. Comprimento de onda do filtro incorreto.	► Certifique-se de que o comprimento de onda está definido para 450 nm. Se estiver disponível um espetrofotómetro com comprimento de onda duplo, defina o filtro de referência entre 600 e 650 nm.

Problema	Causa possível	Investigação/Medidas
Absorvâncias baixas	4. Solução de conjugado contaminada.	► Aplique o Conjugado diretamente a partir do frasco utilizando uma ponta de pipeta limpa; se possível, evite a transferência do Conjugado para outro recipiente. ► Não reponha no frasco o Conjugado não utilizado. ► Certifique-se de que todas as pipetas e sondas utilizadas para aplicar o Conjugado se encontram limpas e livres de soro, detergente e lixívia.
	5. Kit expirado.	► Verifique a data de validade do kit e não utilize em caso de expiração da mesma.
	6. Leitura de branco de ar elevada.	► Investigue as causas da elevada absorvância de fundo.
	7. Armazenamento incorreto do kit.	► Certifique-se de que o kit é armazenado a 2-8 °C, que a placa é selada na bolsa de folha de alumínio e que a saqueta de dessecante é azul/roxa.
	8. Reagentes do kit fora da temperatura ambiente.	► Aguarde tempo suficiente para que os reagentes atinjam a temperatura ambiente antes do ensaio.

Problema	Causa possível	Investigação/Medidas
Absorvâncias baixas	9. Reagentes incorretos utilizados.	► Certifique-se de que os reagentes utilizados correspondem aos indicados na folha de especificações.
	10. Lavagem excessiva da placa (por exemplo, inclusão de um passo longo de imersão).	► Repita o ensaio utilizando o procedimento de lavagem recomendado.
	11. Lavagem insuficiente da placa após o passo de incubação do soro (ou seja, lavagem insuficiente durante o passo de lavagem).	► Repita o ensaio utilizando o procedimento de lavagem recomendado.
Duplicados fracos	1. Fraca mistura das amostras.	► Misture cuidadosamente os reagentes e deixe que atinjam a temperatura ambiente.
	2. Fraca precisão de pipetagem.	► A calibração poderá ter de ser verificada. ► Verifique a técnica de pipetagem – mude a ponta de pipeta para cada amostra e certifique-se de que o líquido em excesso é limpo no exterior da ponta.

Problema	Causa possível	Investigação/Medidas
Duplicados fracos	3. Adição de reagentes em intervalos de tempo inconsistentes; adição de reagentes demasiado demorada; formação de bolhas de ar aquando da adição dos reagentes.	► Utilize sequências temporais consistentes ao adicionar os reagentes. ► Certifique-se de que todas as diluições são realizadas antes de começar a adicionar à placa. ► Melhore a técnica e a velocidade de pipetagem.
	4. Lavagem ineficaz - Resíduos de Tampão de lavagem nos poços, lavagem inconsistente, lavagem inadequada.	► Remova o Tampão de lavagem com uma batida após a lavagem. ► Certifique-se de que os poços são suficiente e uniformemente preenchidos e aspirados aquando da lavagem.
	5. Leitor não calibrado ou aquecido antes da leitura da placa.	► Verifique a precisão do leitor. ► Consulte o manual do leitor para obter o tempo de aquecimento do instrumento.
	6. Caminho ótico obstruído.	► Limpe cuidadosamente o fundo da placa. ► Certifique-se de que o detetor e a fonte de luz do leitor estão limpos.
	7. Derrame de líquido dos poços.	► Repita o ensaio, tomando cuidado para não bater na placa nem derramar líquido.

Problema	Causa possível	Investigação/Medidas
Duplicados fracos	8. As amostras de soro revelam crescimento microbiano, hemólise ou lipemia.	► Não se recomenda a utilização de amostras de soro que revelem crescimento microbiano, hemólise ou lipemia.
	9. Volumes dos poços desiguais devido a evaporação.	► Cubra a placa com uma tampa ou selante de placas (não fornecido).
Todos os poços amarelos	1. TMB contaminado.	► Certifique-se de que o TMB é incolor ou azul ténue.
	2. Reagentes contaminados (por ex., Conjugado, Tampão de lavagem).	► Verifique os reagentes quanto à presença de turvação.
	3. Diluição incorreta do soro.	► Repita o ensaio, garantindo a utilização de uma diluição de soro correta.
	4. Armazenamento incorreto do kit.	► Certifique-se de que o kit é armazenado a 2-8 °C, que a placa é selada na bolsa de folha de alumínio e que a saqueta de dessecante é azul/roxa.

Problema	Causa possível	Investigação/Medidas
Todos os poços amarelos	5. Lavagem ineficaz - Resíduos de tampão de lavagem nos poços, lavagem inconsistente, lavagem inadequada.	▶ Remova o Tampão de lavagem com uma batida após a lavagem. ▶ Certifique-se de que os poços são suficiente e uniformemente preenchidos e aspirados aquando da lavagem.
	6. Se for necessária reconstituição do Conjugado - Conjugado reconstituído incorretamente.	▶ Repita o ensaio, garantindo que o Conjugado é reconstituído de acordo com o método de ensaio.
Todos os poços negativos	1. Teste não realizado corretamente – reagentes corretos não adicionados ou não adicionados na ordem correta.	▶ Verifique o procedimento e verifique se existem reagentes não utilizados. ▶ Certifique-se de que a Solução de paragem não foi adicionada antes do Conjugado ou TMB. ▶ Certifique-se de que o soro foi diluído no Diluente da amostra correto; por exemplo, não utilize Absorvente da amostra para um teste IgG ELISA.

Problema	Causa possível	Investigação/Medidas
Todos os poços negativos	2. Solução de conjugado contaminada.	▶ Aplique o Conjugado diretamente a partir do frasco utilizando uma ponta de pipeta limpa; se possível, evite a transferência do Conjugado para outro recipiente. ▶ Não reponha no frasco o Conjugado não utilizado. ▶ Certifique-se de que todas as pipetas e sondas utilizadas para aplicar o Conjugado se encontram limpas e livres de soro, detergente e lixívia.
	3. Lavagem excessiva da placa (por exemplo, inclusão de um passo longo de imersão).	▶ Repita o ensaio utilizando o procedimento de lavagem recomendado.
	4. Armazenamento incorreto do kit.	▶ Certifique-se de que o kit é armazenado a 2-8 °C, que a placa é selada na bolsa de folha de alumínio e que a saqueta de dessecante é azul/roxa.
	5. Tampão de lavagem preparado com Solução de paragem em vez de Concentrado de tampão de lavagem.	▶ Certifique-se de que o Tampão de lavagem é preparado corretamente.

STÖRUNGSBEHEBUNG

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Hohe Extinktion	1. Kreuzkontamination durch andere Proben.	► Assay wiederholen und beim Waschen und Pipettieren besonders vorsichtig vorgehen.
	2. Unzureichendes/ ineffizientes Waschen oder Fehler beim Ablesen.	► Funktion des Waschautomaten prüfen.
	3. Falsche Filter-Wellenlänge.	► Die Wellenlänge muss 450 nm betragen. Falls ein Spektrophotometer mit zwei Wellenlängen verfügbar ist, den Referenzfilter zwischen 600 und 650 nm einstellen.
	4. Hohe Hintergrundextinktion.	► Assay unter Verwendung einer Kavität wiederholen, die nur Probenverdünnung oder Probenabsorbens enthält (d. h. Leerwertprobe).
	5. Kontaminiertes TMB-Substrat.	► TMB-Substrat muss farblos oder leicht blau sein.
	6. Inkubationszeit zu lang oder Inkubationstemperatur zu hoch.	► Inkubationszeit und -temperatur prüfen. ► Inkubator auf korrekte Temperatur prüfen.
	7. Falsche Verdünnung des Serums.	► Assay mit korrekten Serumverdünnungen wiederholen.
Niedrige Extinktion	1. Inkubationszeit zu kurz oder Inkubationstemperatur zu niedrig.	► Bei der Assay-Inkubation auf die richtige Dauer und Temperatur achten. ► Inkubator auf Einstellung der korrekten Temperatur prüfen.
	2. Fehler bei der Verdünnung oder Pipettierung der Seren.	► Test mit korrekten Verdünnungen und Mengen wiederholen. ► Sicherstellen, dass die Kontrollseren ausreichend gemischt sind.
	3. Falsche Filter-Wellenlänge.	► Die Wellenlänge muss auf 450 nm eingestellt sein. Falls ein Spektrophotometer mit zwei Wellenlängen verfügbar ist, den Referenzfilter zwischen 600 und 650 nm einstellen.
	4. Kontaminierte Konjugatlösung.	► Konjugat mithilfe einer sauberen Pipettenspitze direkt aus der Flasche dispensieren; Umfüllen des Konjugats in einen anderen Behälter möglichst vermeiden. ► Übrig gebliebenes Konjugat nicht wieder in die Flasche füllen. ► Alle zum Dispensieren von Konjugat verwendeten Pipetten und Sonden müssen sauber sein und dürfen kein Serum, Reinigungs- oder Bleichmittel enthalten.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Niedrige Extinktion	5. Verfallsdatum des Kits ist abgelaufen.	▶ Verfallsdatum prüfen. Kit nicht verwenden, wenn das Verfallsdatum überschritten ist.
	6. Hohe Ablesewerte bei der Luft-Leerwertprobe.	▶ Ursachen für die hohe Hintergrundextinktion untersuchen.
	7. Kit falsch gelagert.	▶ Das Kit bei muss bei 2 – 8 °C gelagert werden. Überprüfen, ob die Platte versiegelt und der Beutel mit dem Trockenmittel blau/violett ist.
	8. Reagenzien des Kits nicht auf Raumtemperatur.	▶ Die Reagenzien vor dem Assay ausreichend lange Raumtemperatur annehmen lassen.
	9. Falsche Reagenzien verwendet.	▶ Überprüfen, ob die auf dem Sicherheitsdatenblatt angegebenen Reagenzien verwendet wurden.
	10. Platte zu lange gewaschen (z. B. langes Einweichen).	▶ Assay mit dem empfohlenen Waschverfahren wiederholen.
	11. Platte nach dem Serum-Inkubationsschritt nicht ausreichend gewaschen (d. h. unzureichendes Waschen während der Waschschritte).	▶ Assay mit dem empfohlenen Waschverfahren wiederholen.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Unzulängliche Duplikate	1. Proben nicht ausreichend gemischt.	▶ Reagenzien vorsichtig mischen und Raumtemperatur annehmen lassen.
	2. Ungenaue Pipette.	▶ Kalibration muss u. U. überprüft werden. ▶ Pipettiertechnik überprüfen – Pipettenspitze zwischen den einzelnen Proben wechseln und überschüssige Flüssigkeit von der Außenseite der Spitze abwischen.
	3. Hinzufügen von Reagenzien in unterschiedlichen Zeitabständen oder zu langsames Hinzufügen; Bildung von Luftblasen bei der Reagenzienzugabe.	▶ Reagenzien in gleichmäßigen Zeitabständen hinzufügen. ▶ Alle Verdünnungen vor Beginn der Reagenzienzugabe ansetzen. ▶ Pipettiertechnik und -geschwindigkeit verbessern.
	4. Unzulänglicher Waschvorgang: Waschpufferreste in den Kavitäten, uneinheitliches oder nicht ausreichendes Waschen.	▶ Waschpuffer nach dem Waschen herausklopfen. ▶ Darauf achten, dass die Kavitäten beim Waschen ausreichend und gleichmäßig gefüllt und aspiriert werden.
	5. Leser wurde vor dem Lesen der Platte nicht kalibriert oder nicht auf Betriebstemperatur gebracht.	▶ Präzision des Lesers prüfen. ▶ Vorwärmperiode der Gebrauchsanleitung des Geräts entnehmen.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Unzulängliche Duplikate	6. Optischer Pfad nicht sauber.	► Unterseite der Platte vorsichtig abwischen. ► Überprüfen, ob Lichtquelle und Detektor sauber sind.
	7. Flüssigkeit aus den Kavitäten verschüttet.	► Assay wiederholen. Dabei nicht an die Platte stoßen und keine Flüssigkeit verschütten.
	8. Serumproben weisen Keimwachstum, Hämolyse oder Lipämie auf.	► Keine Serumproben mit Keimwachstum, Hämolyse oder Lipämie verwenden.
	9. Durch Verdunstung uneinheitliche Mengen in den Kavitäten.	► Platte mit einem Deckel oder einer Abdichtfolie (nicht im Lieferumfang enthalten) verschließen.
Alle Kavitäten sind gelb	1. Kontaminiertes TMB-Substrat.	► TMB-Substrat muss farblos oder leicht blau sein.
	2. Kontaminierte Reagenzien (z. B. Konjugat, Waschpuffer).	► Reagenzien auf Trübung prüfen.
	3. Falsche Verdünnung des Serums.	► Assay mit korrekten Serumverdünnungen wiederholen.
Alle Kavitäten sind gelb	4. Kit falsch gelagert.	► Das Kit bei muss bei 2 – 8 °C gelagert werden. Überprüfen, ob die Platte versiegelt und der Beutel mit dem Trockenmittel blau/violett ist.
	5. Unzulänglicher Waschvorgang: Waschpufferreste in den Kavitäten; uneinheitliches oder nicht ausreichendes Waschen.	► Waschpuffer nach dem Waschen herausklopfen. ► Darauf achten, dass die Kavitäten beim Waschen ausreichend und gleichmäßig gefüllt und aspiriert werden.
	6. Falls Konjugat-Rekonstitution erforderlich – Fehler bei Konjugat-Rekonstitution.	► Assay wiederholen und dabei auf Konjugat-Rekonstitution in Übereinstimmung mit dem Assay-Verfahren achten.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Alle Kavitäten negativ	1. Test nicht korrekt durchgeführt – falsche Reagenzien oder Reagenzien in der falschen Reihenfolge zugegeben.	► Verfahren prüfen und auf nicht verwendete Reagenzien achten. ► Die Stopplösung darf nicht vor dem Konjugat oder TMB zugegeben werden. ► Serum immer mit der richtigen Probenverdünnung verdünnen; z. B. für einen IgG ELISA kein Probenabsorbens verwenden.
	2. Kontaminierte Konjugatlösung.	► Konjugat mithilfe einer sauberen Pipettenspitze direkt aus der Flasche dispensieren; Umfüllen des Konjugats in einen anderen Behälter möglichst vermeiden. ► Übrig gebliebenes Konjugat nicht wieder in die Flasche füllen. ► Alle zum Dispensieren von Konjugat verwendeten Pipetten und Sonden müssen sauber sein und dürfen kein Serum, Reinigungs- oder Bleichmittel enthalten.
	3. Platte zu lange gewaschen (z. B. langes Einweichen).	► Assay mit dem empfohlenen Waschverfahren wiederholen.
Alle Kavitäten negativ	4. Kit falsch gelagert.	► Das Kit bei muss bei 2 – 8 °C gelagert werden. Überprüfen, ob die Platte versiegelt und der Beutel mit dem Trockenmittel blau/ violett ist.
	5. Waschpuffer wurde mit Stopplösung anstelle von Waschpufferkonzentrat angesetzt.	► Waschpuffer immer richtig ansetzen.

GUIDA ALLA RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Problema	Possibile causa	Indagine/azioni
Valori di assorbanza elevati	1. Contaminazione crociata da altri campioni.	► Ripetere l'analisi prestando attenzione al lavaggio e alla pipettatura.
	2. Lavaggio o lettura insufficiente o inefficace.	► Controllare l'efficacia del dispositivo di lavaggio
	3. Lunghezza d'onda del filtro non corretta.	► Verificare che la lunghezza d'onda sia pari a 450 nm. Se è disponibile uno spettrofotometro a doppia lunghezza d'onda, impostare il filtro di riferimento tra 600 e 650 nm.
	4. Impurità dell'analisi elevate.	► Ripetere l'analisi e includere un pozzetto che contiene solo diluente campione o assorbente campione (ovvero un pozzetto vuoto).
	5. TMB contaminata.	► Controllare che la TMB sia incolore o azzurra.
	6. Tempo di incubazione troppo lungo o temperatura di incubazione troppo elevata.	► Controllare il tempo e la temperatura di incubazione. ► Verificare che la temperatura dell'incubatore sia corretta.
	7. Diluizione errata del siero.	► Ripetere l'analisi, assicurandosi di utilizzare la diluizione del siero corretta.

Problema	Causa possível	Indagine/azioni
Assorbanza bassa	1. Tempo di incubazione troppo breve o temperatura di incubazione troppo bassa.	► Assicurarsi che il tempo e la temperatura dell'incubazione dell'analisi siano corretti. ► Verificare che l'incubatore sia impostato alla temperatura corretta.
	2. Diluizione o pipettatura dei sieri errate.	► Ripetere l'analisi assicurandosi di utilizzare diluizioni e volumi adeguati. ► Accertarsi che i controlli siano sufficientemente miscelati.
	3. Lunghezza d'onda del filtro errata.	► Controllare che la lunghezza d'onda sia pari a 450 nm. Se è disponibile uno spettrofotometro a doppia lunghezza d'onda, impostare il filtro di riferimento tra 600 e 650 nm.
	4. Soluzione del coniugato contaminata.	► Versare il coniugato direttamente dal flacone utilizzando un puntale per pipetta pulito; evitare di trasferire il coniugato in un altro contenitore, se possibile. ► Non riporre il coniugato inutilizzato nel flacone. ► Assicurarsi che tutte le pipette e le sonde utilizzate per versare il coniugato siano pulite e prive di siero, detergente e candeggina.

Problema	Possibile causa	Indagine/azioni
Assorbanza bassa	5. Kit scaduto.	► Controllare la data di scadenza del kit e non utilizzarlo se scaduto.
	6. Lettura del bianco in aria elevata.	► Individuare le cause dell'assorbanza da impurità elevata.
	7. Conservazione errata del kit.	► Assicurarsi che il kit sia conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8°C, la piastra sia sigillata in una busta di alluminio e il sacchetto dell'essiccante sia blu / viola.
	8. I reagenti del kit non hanno raggiunto la temperatura ambiente.	► Lasciare che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente prima dell'analisi.
	9. Utilizzo di reagenti errati.	► Controllare che i reagenti utilizzati corrispondano a quelli elencati nella scheda delle specifiche.
	10. Lavaggio eccessivo della piastra (ad es. lunga fase di ammollo).	► Ripetere l'analisi utilizzando la procedura di lavaggio consigliata.
	11. Lavaggio insufficiente della piastra dopo la fase di incubazione del siero (ovvero pulizia insufficiente durante la fase di lavaggio).	► Ripetere l'analisi utilizzando la procedura di lavaggio consigliata.

Problema	Possibile causa	Indagine/azioni
Duplicati insufficienti	1. Miscelazione insufficiente dei campioni.	► Miscelare delicatamente i reagenti e portarli a temperatura ambiente.
	2. Scarsa precisione della pipetta.	► Potrebbe essere necessario controllare la calibrazione. ► Controllare la tecnica di pipettatura – sostituire il puntale della pipetta per ciascun campione e assicurarsi che il liquido in eccesso venga rimosso dalla parte esterna del puntale.
	3. Aggiunta di reagenti a intervalli di tempo irregolari; procedura di aggiunta reagenti troppo lunga, bolle d'aria durante l'aggiunta di reagenti.	► Mantenere una tempistica coerente quando si aggiungono i reagenti. ► Assicurarsi che tutte le diluizioni vengano effettuate prima di iniziare l'aggiunta alla piastra. ► Migliorare la tecnica e la velocità di pipettatura
	4. Lavaggio inefficace - tampone di lavaggio lasciato nei pozzetti, lavaggio irregolare, lavaggio inadeguato.	► Espellere il tampone di lavaggio dopo il lavaggio. ► Controllare che i pozzetti vengano riempiti e aspirati in modo sufficiente e uniforme durante il lavaggio.
	5. Lettore non calibrato o non riscaldato prima della lettura della piastra.	► Verificare la precisione del lettore ► Consultare il manuale del lettore per verificare il tempo di riscaldamento dello strumento.

Problema	Possibile causa	Indagine/azioni
Duplicati insufficienti	6. Percorso ottico sporco.	▶ Pulire delicatamente il fondo della piastra. ▶ Controllare che la sorgente luminosa e il rilevatore del lettore siano puliti.
	7. Fuoriuscita di liquidi dai pozzetti.	▶ Ripetere l'analisi, facendo attenzione a non colpire la piastra o spruzzare liquidi.
	8. I campioni di siero mostrano crescita microbica, emolisi o lipidemia.	▶ Non utilizzare campioni di siero con crescita microbica, emolisi o lipidemia.
	9. Volumi di siero irregolari a causa dell'evaporazione.	▶ Coprire la piastra con un coperchio o un sigillatore per piastre (non fornito).
Tutti i pozzetti gialli	1. TMB contaminata.	▶ Controllare che la TMB sia incolore o azzurra.
	2. Reagenti contaminati (ad es. coniugato, tampone di lavaggio).	▶ Controllare che i reagenti non siano torbidi.
	3. Diluizione errata del siero.	▶ Ripetere l'analisi, assicurandosi di utilizzare la diluizione del siero corretta.

Problema	Possibile causa	Indagine/azioni
Tutti i pozzetti gialli	4. Conservazione errata del kit.	▶ Assicurarsi che il kit sia conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8°C, la piastra sia sigillata in una busta di alluminio e il sacchetto dell'essiccante sia blu / viola.
	5. Lavaggio inefficace - tampone di lavaggio lasciato nei pozzetti, lavaggio irregolare, lavaggio inadeguato.	▶ Espellere il tampone di lavaggio dopo il lavaggio. ▶ Controllare che i pozzetti vengano aspirati e riempiti in modo sufficiente e uniforme durante il lavaggio.
	6. Se era necessaria la ricostituzione del coniugato, quest'ultimo non è stato ricostituito correttamente.	▶ Ripetere l'analisi assicurandosi che il coniugato venga ricostituito in base al metodo di analisi.

Problema	Possibile causa	Indagine/azioni
Tutti i pozzetti negativi	1. Test non eseguito correttamente – non sono stati aggiunti i reagenti corretti o non sono stati aggiunti nella sequenza adeguata.	▶ Controllare la procedura e i reagenti inutilizzati. ▶ Assicurarsi che la soluzione di arresto non sia stata aggiunta prima del coniugato o della TMB. ▶ Verificare che il siero sia stato diluito nel diluente campione corretto; ad es. non utilizzare l'assorbente campione per un test ELISA IgG.
	2. Soluzione del coniugato contaminata.	▶ Versare il coniugato direttamente dal flacone utilizzando un puntale per pipetta pulito; evitare di trasferire il coniugato in un altro contenitore, se possibile. ▶ Non riporre il coniugato inutilizzato nel flacone. ▶ Assicurarsi che tutte le pipette e le sonde utilizzate per versare il coniugato siano pulite e prive di siero, detergente e candeggina.
	3. Lavaggio eccessivo della piastra (ad es. lunga fase di ammollo).	▶ Ripetere l'analisi utilizzando la procedura di lavaggio consigliata.

Problema	Possibile causa	Indagine/azioni
Tutti i pozzetti negativi	4. Conservazione errata del kit.	▶ Assicurarsi che il kit sia conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8°C, la piastra sia sigillata in una busta di alluminio e il sacchetto dell'essiccante sia blu / viola.
	5. Tampone di lavaggio preparato con soluzione di arresto anziché a partire da tampone di lavaggio concentrato.	▶ Accertarsi che il tampone di lavaggio si stato preparato in modo corretto.

Technical support contact information / Coordonnées de l'assistance technique / Información de contacto del servicio de asistencia técnica / Informação de contacto para apoio técnico / Kontaktinformationen des technischen Kundendiensts / Informazioni relative al contatto per l'assistenza tecnica

For further information, please contact your distributor or contact our support specialists: / Pour de plus amples informations, veuillez contacter votre fournisseur ou nos techniciens d'assistance : / Para obtener más información, póngase en contacto con su distribuidor o con los expertos en asistencia técnica: / Para mais informações, contacte o seu distribuidor ou especialistas de apoio: / Weitere Informationen erhalten Sie von dem für Sie zuständigen Vertriebspartner oder von unseren Kundendienstspezialisten: / Per ulteriori informazioni, contattare il distributore o i nostri specialisti addetti al supporto tecnico:

Region / Région / Región / Região / Region / Regione	Phone / Téléphone / Teléfono / Telefone / Telefon / Telefono	E Mail Address / Adresse e-mail / Dirección de correo electrónico / Endereço de e-mail / E-Mail-Adresse / Indirizzo e-mail
Europe & Middle East / Europe et Moyen-Orient / Europa y Oriente Medio / Europa e Médio Oriente / Europa und Naher Osten / Europa e Medio Oriente	+ 44 161 483 9032	EME.TechSupport@abbott.com
Asia Pacific / Asie-Pacifique / Asia Pacífico / Ásia-Pacífico / Asien-Pazifikraum / Gruppo Asia-Pacifico	+ 61 7 3363 7711	AP.TechSupport@abbott.com
Africa, Russia, & CIS / Afrique, Russie et CEI / África, Rusia y CEI / África, Rússia e CEI / Afrika, Russland und GUS / Africa, Russia e Comunità degli Stati Indipendenti	+ 27 10 500 9700 + 44 161 483 5884	arcis.techsupport@abbott.com
Latin America / Amérique latine / América Latina / América Latina / Lateinamerika / America Latina	0800-555-9200 0800-11-3363 01800-042-3877	Ts.argentina@abbott.com Sac.Brasil@abbott.com Ts.colombia@abbott.com

BIBLIOGRAPHY OF SUGGESTED READING / BIBLIOGRAPHIE SUGGÉRÉE / BIBLIOGRAFÍA DE LECTURA RECOMENDADA / REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS / EMPFOHLENE LITERATURHINWEISE / BIBLIOGRAFIA CONSIGLIATA

1. U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. (1999). p. 8-16. *In* (ed.) Richmond JY, McKinney RW, Guidelines: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th Edition. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
2. Xu, H., Lohr, J. and Greiner, M. (1997). The selection of ELISA cutoff points for testing antibody to Newcastle disease by two-graph receiver operating characteristic (TG-ROC) analysis. *J. Immunol. Meth.* **208(1)**:61-64.
3. Greiner, M., Sohr, D. and Gobel, P. (1995). A modified ROC analysis for selection of cutoff values and the definition of intermediate results in serodiagnostic tests. *J. Immunol. Meth.* **185**:123-132.
4. Seth, J. (1991). Standardisation and Quality Assurance. In: Principle and Practice of Immunoassay, Price, C.P. and Newman, D.J. (Eds). MacMillian, London

Authorized Representative
MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, 66386 St. Ingbert, Germany
Phone : +49 6894 581020, Fax : +49 6894 581021

Abbott Diagnostics Korea Inc.
65, Borahagal-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do,
17099, Republic of Korea
Tel : 82-31-899-2800 | Fax : 82-31-899-2840
abbott.com/poct

Date issued : 2020. 04
01PE20/01PE21-06-A0

© 2020 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

Prohibida su venta o distribución en Estados Unidos de América

Panbio Dengue Early ELISA

Cat No. 01PE40

USO PREVISTO

El ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio es un ensayo ELISA para la captura del antígeno NS1 del dengue. Se utiliza para la detección cualitativa del antígeno NS1 en suero como ayuda para el diagnóstico en laboratorios clínicos de pacientes con síntomas clínicos indicativos de fiebre del dengue. El ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio debe utilizarse junto con otros análisis serológicos para el dengue.

INTRODUCCIÓN

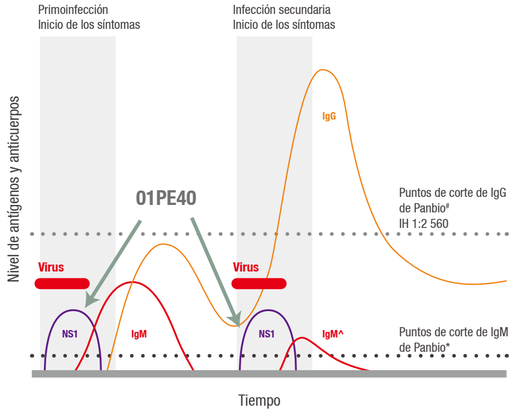
El virus del dengue pertenece a la familia de los flavivirus, que se encuentra en regiones extensas de los trópicos y los subtrópicos. Más de la mitad de la población mundial vive en regiones con riesgo de una posible transmisión del dengue, lo que lo convierte en la enfermedad causada por arbovirus más importante en seres humanos, en términos de morbididad y mortalidad[1]. Existen cuatro serotipos del virus del dengue claramente diferenciados pero antigénicamente relacionados que se transmiten por medio de mosquitos hembra, principalmente los de las especies *Aedes aegypti, Aedes albopictus y Aedes polynesienses.*

La infección por el virus del dengue presenta manifestaciones clínicas variadas, desde asintomáticas a mortales. La enfermedad puede clasificarse en función de su gravedad en los siguientes tipos: enfermedad febril no específica, fiebre del dengue clásico, fiebre del dengue hemorrágico (FDH) (grados I y II) y síndrome de choque por dengue (SCD) (grados III y IV)[1]. La fiebre del dengue clásico se caracteriza por la aparición repentina de fiebre, que se manifiesta junto con dos o más de los siguientes síntomas: cefalea, dolor retroorbitrario, mialgia, artralgia, exantema, manifestaciones hemorrágicas o leucopenia[2]. Es frecuente una evolución febril bifásica, así como insomnio y anorexia con pérdida del sentido del gusto o un sabor amargo. La fiebre hemorrágica del dengue y el síndrome de shock por dengue son complicaciones graves potencialmente mortales que a menudo se asocian a la infección por un segundo serotipo[3].

El diagnóstico precoz del dengue permite administrar un tratamiento sintomático y una monitorización tempranas. Esto reduce el riesgo de complicaciones tales como la fiebre hemorrágica del dengue o el síndrome de shock del dengue, especialmente en los países en los que el dengue es endémico[4].

La detección del antígeno NS1 del dengue con el ensayo ELISA es un procedimiento muy útil, ya que permite detectar la infección antes de que tenga lugar la seroconversión. El antígeno NS1 se puede detectar en el suero desde el día 1 tras el inicio de la fiebre y hasta el día 9[5,6,7] (véase la ilustración). En contraste, los anticuerpos IgM no son detectables hasta los días 3–5[8,9]. La infección secundaria por virus del dengue se caracteriza por altos niveles de IgG, con un intervalo de detección óptimo entre 6 y 15 días después del comienzo de la enfermedad, que pueden estar acompañados de niveles elevados de IgM[10,11]. El ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgG contra el dengue de Panbio está diseñado para detectar los altos niveles de anticuerpos IgG específicos de la infección por dengue por encima de este umbral. El ensayo, sin embargo, no detecta las concentraciones bajas de anticuerpos IgG de exposiciones pasadas que, con frecuencia, presentan muchos sujetos procedentes de regiones endémicas. Para obtener el diagnóstico más exacto posible del dengue en pacientes que acudan en varias etapas de la enfermedad, conviene combinar el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio (01PE40), el ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgM contra el virus del dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgG contra el virus del dengue de Panbio (01PE10).

Infección por dengue : respuesta inmunitaria



\# Puntos de corte del cartucho de dengue Duo y del ensayo ELISA de captura de IgG de Panbio. Equivale aproximadamente a un título de 2 560 en la prueba de inhibición de hemaglutinación (IH).
* Puntos de corte del cartucho de dengue Duo y del ensayo ELISA de captura de IgM de Panbio.
^ Los niveles de IgM en una infección secundaria pueden ser indetectables.

PRINCIPIO

Cuando está presente, el antígeno sérico NS1 del dengue se une a los anticuerpos anti–NS1 ligados a la superficie de poliestireno de los micropocillos. El suero restante se elimina mediante lavado y se agrega anticuerpo monoclonal (MAb) anti–NS1 conjugado con peroxidasa de rábano (HRP). Después del período de incubación, los micropocillos se lavan y se agrega un sistema de sustrato incoloro de tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno (cromógeno de TMB). La enzima hidroliza el sustrato y la TMB se vuelve de color azul. Después de detener la reacción con ácido, la TMB se vuelve de color amarillo. Los cambios de color indican la presencia del antígeno NS1 del dengue en la muestra de la prueba.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. *Micropocillos recubiertos de anticuerpos anti–NS1 (12 x 8 pocillos)*: los micropocillos están recubiertos de anticuerpos anti–NS1. Listo para usar. Los micropocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de un secante. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
2. *MAb anti–NS1 conjugado con HRP*: un frasco de 15 mL (**naranja**). Anticuerpo monoclonal anti–NS1 conjugado con peroxidasa de rábano con conservante (Proclin™ al 0,1%). Listo para usar. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
3. *Tampón de lavado (20x)*: un frasco de 60 mL de solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2–7,6) concentrada 20x con Tween 20 y conservante (Proclin™ al 0,1%). A temperaturas bajas puede producirse cristalización. Para corregirla, incube a una temperatura de 37 °C hasta que desaparezca. Mezcle bien. Diluya una parte del tampón de lavado concentrado con 19 partes de agua destilada. El tampón diluido puede almacenarse durante una semana entre 2 y 25 °C.
4. *Diluyente para muestra*: un frasco de 22 mL (**marrón**). Listo para usar. Solución salina tamponada con Tris (pH 7,2–7,6) con conservantes (Proclin™ al 0,1%) y aditivos. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
5. *Cromógeno TMB (TMB)*: un frasco de 15 mL. Listo para usar. Una mezcla de 3,3',5,5'–tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno en un tampón de citrato–ácido cítrico (pH 3,5–3,8). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
6. *Control positivo*: un vial de tapón **morado** con 1,2 mL de antígeno recombinante (contiene Proclin™ al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
7. *Calibrador*: dos viales de tapón **naranja** con 1,5 mL de antígeno recombinante (contiene Proclin™ al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
8. *Control negativo*: un vial de tapón **blanco** con 1,2 mL de suero humano (contiene acida sódica al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
9. *Solución de parada*: un frasco de tapón **rojo** con 15 mL. Listo para usar. Ácido fosfórico 1M. Estable entre 2 y 25 °C hasta su caducidad.

Proclin™ 300 es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

※ Clasificación según la normativa (CE) n.º 1272/2008:

Identificador del producto	**Nombre comercial**	Tampón de lavado, Diluyente para muestra, Conjugados con HRP, Control positivo, Calibrador
	Sustancia peligrosa	Proclin 300 (5–chloro–2–methyl–4– isothiazolin–3–one [EC no. 247–500–7] and 2–methyl–2H –isothiazol–3–one [EC no. 220–239–6] (3:1), CAS No. 55965–84–9)
Clasificación		Corrosión o irritación cutáneas Categoría2 Lesiones o irritación ocular graves Categoría2 Sensibilización cutánea Categoría1
Pictograma de riesgo		
Palabra de advertencia		Atención
Indicación de peligro		H315: Provoca irritación cutánea H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel H319: Provoca irritación ocular grave
Consejos de prudencia		
Prevención		P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P264: Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación P272: Las prendas de trabajo contaminadas no deben sacarse del lugar de trabajo P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
Respuesta		P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P321: Se necesita un tratamiento específico P332+P313: En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico P337+P313: Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico P362: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas
Eliminación		P501: Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local, regional, nacional o internacional

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Micropipetas de precisión ajustables con puntas de pipeta desechables (capacidad 5–1000 µL)
2. Agua desionizada
3. Sistema de lavado de microplacas
4. Lector de microplacas con un filtro de 450 nm
5. Cronómetro
6. Probeta graduada
7. Matraz
8. Tubos de ensayo o microplaca para diluciones

PRECAUCIONES
PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

1. Todas las muestras de origen humano utilizadas en la preparación de los controles han dado resultados negativos en las pruebas para los virus 1 y 2 de la inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), el virus de la hepatitis C (VHC) y el antígeno de superficie de la hepatitis B. Sin embargo, ningún método ofrece una garantía completa y todos los controles y antígenos humanos deben manipularse como material potencialmente infeccioso. Los Centers for Disease Control and Prevention y los National Institutes of Health recomiendan manipular los agentes potencialmente infecciosos en laboratorios de contención biológica de nivel 2[12].
2. Esta prueba solo debe realizarse con suero. No se ha establecido el uso de sangre completa, plasma u otras matrices de muestras.
3. No se deben utilizar sueros ictéricos o lipidémicos o sueros que presenten hemólisis o crecimiento microbiano.
4. No inactive los sueros con calor.
5. Todos los reactivos deben estar estabilizados a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) antes de comenzar el ensayo. Los cambios de temperatura afectan al ensayo. No saque los micropocillos de la bolsa cerrada hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C).
6. Dispense los reactivos directamente de los frascos utilizando puntas de pipeta limpias. Al transferirlos pueden contaminarse.
7. Los micropocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de un secante. Si no se lleva a cabo este paso pueden obtenerse resultados erróneos.
8. Sistema de sustrato:
   (a) Dado que la TMB se puede contaminar con iones metálicos, no permita que el sistema de sustrato entre en contacto con superficies metálicas.
   (b) Evite una exposición prolongada a la luz directa.
   (c) Algunos detergentes pueden interferir con el rendimiento de la TMB.
   (d) La TMB puede presentar un tenue color azulado, lo que no afecta a la actividad del sustrato ni a los resultados del ensayo.

⚠

9. Algunos componentes del kit contienen acida sódica, que puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar compuestos de acidas metálicas altamente explosivos. Al desechar estos reactivos por las tuberías, hágalo vertiendo una gran cantidad de agua con el fin de evitar que la acida se acumule en las cañerías.
10. La acida sódica inhibe la actividad del conjugado. Para agregar el conjugado deben utilizarse puntas de pipeta limpias, de forma que no se transfiera acida sódica de otros reactivos.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

La sangre extraída por venopunción debe dejarse coagular a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) y centrifugarse siguiendo el procedimiento del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, Approved Standard – Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3).
El suero debe separarse lo antes posible y conservarse refrigerado (2 – 8 °C) o congelado (≤ –20 °C) si no se va a analizar en el plazo de dos días. No se recomienda usar congeladores con descongelación automática para almacenar las muestras. No se recomienda emplear sueros ictéricos o sueros que presenten hemólisis, lipidemia o crecimiento microbiano. El CLSI proporciona recomendaciones para almacenar las muestras de sangre (Approved Standard – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Nota: compruebe que todos los reactivos se han estabilizado a temperatura ambiente (20–25 °C) antes de comenzar el ensayo. Si lleva a cabo el ensayo fuera de los intervalos de tiempo y temperatura proporcionados, se pueden obtener resultados incorrectos. Los ensayos que se realicen fuera de los intervalos de tiempo y temperatura establecidos deben repetirse.

Predilución del control y de la muestra

1. Saque el número necesario de micropocillos de la bolsa de aluminio e insértelos en el soporte para tiras. Se necesitan cinco micropocillos para el control positivo (P), el control negativo (N) y el calibrador (CAL) por triplicado. Asegúrese de que los micropocillos que no se utilicen se vuelven a guardar en la bolsa de aluminio sellada con el secante.
2. Usando tubos de ensayo o una placa de microtitulación adecuados, diluya el control positivo, el control negativo, el calibrador y las muestras del paciente.
   Agregue 75 µL de diluyente para muestra a 75 µL de muestra. Mezcle bien.
   La dilución final de la muestra es de 1 a 2.

⚠

No agite los controles en el vórtex. Los controles contienen glicerol. Asegúrese de que los controles diluidos están bien mezclados. Mezcle bien por inversión o pipeteando con suavidad. La agitación en un vórtex no es eficaz.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ELISA

N	4
P	5
CAL	6
CAL	7
CAL	8
1	9
2	10
3	11

1. Pipetee 100 µL de las muestras de análisis y los controles diluidos en sus respectivos micropocillos.
2. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.
3. Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado).
4. Pipetee 100 µL de MAb anti–NS1 Conjugado con HRP en cada pocillo.
5. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.
6. Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado).
7. Pipetee 100 µL de TMB en cada pocillo.
8. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C), cronometrando desde la primera adición. Se formará un color azul.
9. Pipetee 100 µL de la solución de parada en todos los pocillos en el mismo orden y tiempo que cuando se agregó la TMB. Mezcle bien. El color azul cambiará a amarillo.
10. Antes de 30 minutos, lea la absorbancia de cada pocillo a una longitud de onda de 450 nm con un filtro de referencia de entre 600 y 650 nm.

Nota: si dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fije el filtro de referencia entre 600–650 nm. Si lee los micropocillos a una longitud de onda de 450 nm sin un filtro de referencia, puede obtener valores de absorbancia más elevados debido al fondo.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Un lavado eficaz para eliminar los componentes o muestras sin acomplejar es un requisito fundamental del procedimiento del ensayo ELISA.

A. Dispositivo de lavado de placas automatizado
(1) Aspire completamente todos los pocillos.
(2) Llene todos los pocillos hasta el borde (350 µL) durante el ciclo de lavado.
(3) Al terminar los seis (6) lavados, invierta la placa y golpee firmemente sobre papel absorbente para garantizar que se elimina todo el tampón.
(4) Los dispositivos de lavado de placas automatizados deben mantenerse adecuadamente con el fin de garantizar la eficacia de los lavados. Deben seguirse siempre las instrucciones de limpieza del fabricante.

B. Lavado manual
(1) Deseche el contenido de la placa en un contenedor apropiado.
(2) Llene los pocillos con tampón de lavado utilizando una botella flexible adecuada. Procure que no se formen burbujas en el tampón de lavado, ya que esto reduciría la eficacia. Deseche el tampón de lavado de los pocillos inmediatamente.
(3) Vuelva a llenar los pocillos con tampón de lavado y deséchelo rápidamente.
(4) Repita el paso (3) otras cuatro veces. Esto da un total de seis (6) lavados con tampón de lavado.
(5) Después del último lavado, elimine el contenido de los pocillos y golpee la placa sobre papel absorbente para garantizar que se ha eliminado todo el tampón de lavado.

CONTROL DE CALIDAD

Cada kit contiene un calibrador y controles positivos y negativos, cuyos valores aceptables se encuentran en la hoja de especificaciones que se incluye en el estuche. Los controles negativos y positivos están previstos para controlar un fallo sustancial del reactivo. El control positivo no asegura la precisión del punto de corte del ensayo. El análisis no es válido y se debe repetir si las lecturas de absorbancia de los controles o del calibrador no cumplen las especificaciones. Si el resultado del análisis no es válido, no se pueden presentar los resultados del paciente.
Los requisitos del control de calidad deben ajustarse a la normativa local o nacional (o a los requisitos de acreditación) y a los procedimientos de control de calidad normalizados de su laboratorio.
Se recomienda al usuario que consulte los documentos CLSI C24–A y 42 CFR 493.1256 para obtener información acerca de los procedimientos de control de calidad adecuados.

CÁLCULOS

NOTA IMPORTANTE: el factor de calibración es específico de cada lote y figura en la hoja de datos técnicos. Consulte el valor del factor de calibración antes de comenzar los cálculos.

1. Calcule la absorbancia promedio de los triplicados del calibrador y multiplique por el factor de calibración. Este es el valor del punto de corte.
2. El valor índice se puede calcular dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor del punto de corte (calculado en el paso (1)).

De manera alternativa:

3. Las unidades Panbio se pueden calcular multiplicando el valor índice (calculado en el paso (2)) por 10.

Valor índice = $\frac{\textbf{absorbancia de la muestra}}{\textbf{Valor del punto de corte}}$

Ejemplo: absorbancia de la muestra A = 0.949
Absorbancia de la muestra B = 0.070
Absorbancia media del calibrador = 0,802
Factor de calibración = 0,62
Valor del punto de corte = 0,802 x 0,62 = 0,497

Muestra A (0.949/0.497) = 1.91 de valor
Muestra B (0.070/0.497) = 0.14 de valor

Unidades Panbio = Valor índice X 10

Muestra A 1.91 X 10 = 19.1 unidades Panbio
Muestra B 0.14 X 10 = 1.4 unidades Panbio

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El punto de corte se ha determinado utilizando poblaciones endémicas y no endémicas de Australia, Honduras y Tailandia.
Diagnóstico de infección por dengue: el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio determina la presencia del antígeno NS1 del dengue en el suero de un paciente. Un resultado positivo (> 11 Unidades Panbio) indica una primoinfección o infección secundaria activa por dengue. Si se necesita distinguir entre primoinfección e infección secundaria, debe emplearse el ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de IgG contra el dengue de Panbio (01PE10).

ÍNDICE	UNIDADES PANBIO	RESULTADO
<0.9	<9	Negativo
0.9 – 1.1	9 – 11	Dudoso
>1.1	>11	Positivo

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
Negative	No se detecta el antígeno NS1 del dengue. El resultado no descarta la infección por dengue. Esta muestra debe someterse a un análisis serológico. Si el resultado de esta muestra es negativo, pero se sospecha que puede estar infectada por el virus del dengue, conviene extraer y someter a un análisis serológico una muestra de seguimiento antes de 14 días desde la obtención de la primera muestra.
Dudoso	Se debe repetir el análisis de las muestras dudosas. Si las muestras siguen dando un resultado dudoso al repetir el ensayo, es necesario volver a analizarlas utilizando un método alternativo o bien obtener otra muestra.
Positivo	Presencia del antígeno NS1 del dengue detectable. Deben hacerse pruebas serológicas de dengue a muestras de seguimiento con el fin de confirmar la infección por dengue.

Forma recomendada de comunicar los resultados obtenidos: "Los siguientes resultados se obtuvieron con el kit del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Los valores obtenidos con métodos diferentes no pueden intercambiarse. La magnitud del resultado medido (por encima del punto de corte) no indica la cantidad total de antígeno presente". El resultado debe comunicarse como positivo, negativo o dudoso y no como un valor numérico.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El diagnóstico clínico debe interpretarse junto con los signos y síntomas clínicos del paciente. Los resultados de este kit no proporcionan por sí solos un diagnóstico concluyente. Por consiguiente, deben considerarse junto con otros síntomas y datos clínicos del paciente.
2. No se debe llevar a cabo un estudio de cribado de la población general. El valor de predicción positivo depende de la probabilidad de que el virus esté presente. Solo debe hacerse la prueba a pacientes que presenten síntomas clínicos o cuando se sospeche que han estado expuestos al virus.
3. Es frecuente encontrar una reacción serológica cruzada dentro del grupo de los flavivirus (es decir, entre dengue 1, 2, 3 y 4, encefalitis del valle de Murray, encefalitis japonesa, fiebre amarilla y el virus del Nilo Occidental). Antes de confirmar el diagnóstico, deben descartarse estas enfermedades.
4. No se han establecido las características de rendimiento para la determinación visual de los resultados.
5. Todos los sueros que den positivo en el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio deben remitirse a un laboratorio de referencia para confirmar el resultado positivo para el dengue y para su registro epidemiológico.
6. El ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de IgG contra el dengue de Panbio (01PE10) son los más convenientes para la determinación de los anticuerpos IgM e IgG. Ambos emplean el mismo método de captura, de manera que tanto los anticuerpos IgM como los anticuerpos IgG se determinan mediante el uso de un método y una dilución sérica comunes. También se pueden utilizar para la diferenciación provisional entre primoinfección e infección secundaria por dengue.

VALORES PREVISTOS

El antígeno NS1 del dengue solo se detecta en el suero del paciente en las primeras fases de la evolución de la enfermedad, entre 1 y 9 días después de la manifestación de los signos clínicos[5,6,7]. En el momento en que se producen los anticuerpos IgG anti–NS1 (lo que normalmente coincide con la defervescencia), el antígeno NS1 deja de ser detectable en suero. Por lo tanto, el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio es un marcador de infección aguda activa solamente. Fuera de este intervalo temporal, la infección por dengue debe diagnosticarse usando pruebas serológicas alternativas.

La primoinfección por dengue se caracteriza por la presencia de niveles significativos o aumentados de IgM a los 3 o 5 días del comienzo de la enfermedad, que pueden mantenerse durante 3 a 5 meses. La infección secundaria se caracteriza por altos niveles de IgG que ya se pueden detectar tres días después del comienzo de la infección, y que pueden ir acompañados de niveles de anticuerpos IgM elevados[10,11]. En fases tempranas de la infección y en algunas sobreinfecciones, los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Sin embargo, el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio ayuda a detectar la presencia incipiente del antígeno en suero. Si los síntomas persisten, se recomienda repetir las pruebas serológicas de los pacientes antes de 14 días desde la obtención de la primera muestra.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Centro de estudio 1
Se analizaron 235 muestras de suero retrospectivas de personas de distintas edades y ambos sexos con el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio en un centro altamente acreditado de Vietnam. Las muestras se extrajeron de pacientes que presentaban síntomas de dengue, y se caracterizaron mediante una combinación de PCR, cultivos de virus y ensayos ELISA para detectar IgG e IgM. Se incluyeron muestras de los siguientes grupos: 47 muestras de pacientes sin indicios serológicos o virológicos de infección aguda o reciente por dengue y 188 muestras de pacientes con dengue confirmado mediante análisis de laboratorio. Las muestras positivas procedían de pacientes con primoinfección (49) e infección secundaria (139) por dengue que habían sido infectados por los serotipos del virus del dengue 1, 2 y 3. La tabla 1 recoge un resumen de los datos.

Tabla 1: centro de estudio 1
Sensibilidad y especificidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

Estado del dengue	Positivo	Dudoso	Negativo	Total
Infección aguda por dengue	146	0	42	188
Negativo para dengue	3	0	44	47
Total	**149**	**0**	**86**	**235**

			95% CI#
Sensibilidad (positivo para dengue)	= 146/188	= 77.7%	71.7 – 83.6%
Especificidad	= 44/47	= 93.6%	82.5 – 98.7%
Concordancia total	= 190/235	= 80.9%	75.8 – 85.9%

* Intervalo de confianza

Centro de estudio 2
Se seleccionaron 257 pacientes que mostraban síntomas de fiebre (5 días tras el inicio de los síntomas) para participar en un estudio realizado por un laboratorio de referencia de Tailandia. Se analizaron las muestras para dengue agudo y se obtuvieron 75 muestras positivas y 182 muestras negativas para dengue. Las muestras positivas se debían a infecciones provocadas por los serotipos del virus del dengue 1, 2, 3 y 4. Todas las muestras se analizaron con el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. La tabla 2 recoge un resumen de los datos.

Tabla 2: centro de estudio 2
Sensibilidad y especificidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

Estado del dengue	Positivo	Negativo	Total
Infección aguda por dengue	57	18	75
Negativo para dengue	3	179	182
Total	**60**	**197**	**257**
			95% CI[#]
Sensibilidad (positivo para dengue)	= 57/75	= 76.0%	64.8 – 85.1%
Especificidad	= 179/182	= 98.4%	95.3 – 99.7%
Concordancia total	= 236/257	= 91.8%	87.8 – 94.9%

* Intervalo de confianza

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio se estableció analizando 8 muestras, tres veces cada una con tres lotes distintos del kit, en tres días distintos. La precisión total intraserial, interdiaria y entre lotes se estimó mediante el análisis de la varianza (ANOVA de tipo II) y se indica en la tabla 3.

Tabla 3
Mediciones de la precisión del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio (usando el valor índice*)

			Intraserial		Interdiaria		Entre lotes		Total	
Muestra	**n**	***Media**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**
Positivo	27	3.22	0.16	5.0%	0.05	1.7%	0.17	5.3%	0.22	6.8%
Calibrador	27	1.71	0.05	2.7%	0.00	0.0%	0.20	11.4%	0.17	9.8%
Negativo	27	0.22	0.03	11.4%	0.02	9.0%	0.05	21.4%	0.05	22.4%
#1	27	5.72	0.31	5.4%	0.29	5.1%	0.39	6.7%	0.51	8.9%
#2	27	5.02	0.17	3.4%	0.12	2.4%	0.12	2.4%	0.22	4.4%
#3	27	3.94	0.25	6.4%	0.13	3.4%	0.02	0.5%	0.28	7.0%
#4	27	1.44	0.08	5.3%	0.06	4.0%	0.06	3.9%	0.10	7.1%
#5	27	1.58	0.09	5.9%	0.00	0.0%	0.08	4.8%	0.11	7.0%
#6	27	1.85	0.14	7.5%	0.09	5.0%	0.11	6.1%	0.18	10.0%
#7	27	0.83	0.03	3.6%	0.00	0.0%	0.04	4.7%	0.04	5.3%
#8	27	0.88	0.07	7.6%	0.02	2.3%	0.02	2.2%	0.07	8.0%

Todos los valores están calculados a partir de valores índice (punto de corte mediante densidad óptica)
DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación

Nota: los resultados de desviación estándar se han redondeado a dos decimales por motivos de tabulación.
* El valor índice se calcula dividiendo la absorbancia de la muestra entre el valor del punto de corte.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizó un panel compuesto por 390 muestras de pacientes con enfermedades confirmadas distintas del dengue para establecer la especificidad analítica del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Las muestras procedían de pacientes con enfermedades con una posible reactividad cruzada. En cada una de las muestras incluidas en el estudio se identificó el diagnóstico de la enfermedad antes de aplicar el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Se observó una reactividad cruzada mínima entre las 390 muestras. Consulte la tabla 4 para ver un resumen de los resultados.

Tabla 4
Análisis de la reactividad cruzada del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

Tipo de Enfermedad*	Muestras totales	Resultado positivo
Virus de Epstein–Barr	28	0/28
Malaria	26	0/26
Anticuerpo antinuclear	16	0/16
Factor reumatoide	26	1/26
Hepatitis A	30	0/30
Leptospirosis	20	0/20
Virus del Nilo Occidental	10	0/10
Tifus de las malezas	7	2/7
Fiebre de chikungunya	32	1/32
Hepatitis B	30	5/30
Hepatitis C	26	0/26
Fiebre Q	24	0/24
Gripe	32	0/32
Virus del río Ross	23	0/23
Citomegalovirus	20	0/20
Rubéola	20	0/20
Sarampión	20	0/20
Total	**390**	**9/390**

* Caracterización basada en la serología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mairuhu ATA, Wagenaar J, Brandjes DPM and van Gorp ECM. (2004). Dengue: an arthropod–borne disease of global importance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **23**:425–433.
2. Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, Pletneve SV, Corver J, Lenches E, Jones CT, Muhkopadhyay S, Chipman PR, Strauss EG, Baker TS and Strauss JH. (2002). Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* **108**:717–725.
3. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongswasdi V, Suntayakorn S, Puttisri P and Hoke CH. (1989). An enzyme linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co–circulate. *Am J Trop Med Hyg.* **40**:418–427.
4. Ong A, Sandar M, Chen MI and Yee Sin L. (2007). Fatal dengue hemorrhagic fever in adults during a dengue epidemic in Singapore. *Int J Infect Dis.* **11 (3)**:263–267.
5. Librarty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, Vaugh DW, Nisalak A, Ennis FA and Rothman AL. (2002). High circulating levels of the dengue virus non–structural protein NS1 EARLY in dengue illness correlate with the development of dengue haemorrhagic fever. *J Infect Dis.* **186**:1165–1168.
6. Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V,and Flammand M (2002). Enzyme–linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. J *Clin Microbiol*. **40**:376–381.
7. Young PR, Hilditch PA, Bletchly C and Halloran W. (2000). An antigen capture enzyme–linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol.* **38**:1053–1057.
8. Lindegren G, Vene S, Lundkvist A and Falk KI. (2005). Optimized diagnosis of acute dengue fever in Swedish travelers by a combination of reverse transcription–PCR and Immunoglobulin M detection. *J Clin Microbiol*. **43**:2850–2855.
9. Shu P and Huang J. (2004). Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* **11**:642–650
10. Hawkes RA, Boughton CR, Naim HM, Wild J and Chapman B. (1985). Arbovirus infections of humans in New South Wales. Seroepidemiology of the flavivirus group of togaviruses. *Med J Aust.* **143**:555–561.
11. World Health Organisation. (1997). Dengue Haemorrhagic Fever: diagnosis, treatment, prevention and control, p34–36. 2nd edition. World Health Organisation Office of Publications Geneva, Switzerland.
12. U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. (1999). p. 8–16. *In* (ed.) Richmond JY, McKinney RW, Guidelines: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th Edition. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

Date Issued : 2016. 03
01PE40–01–Es–2

Información de contacto del servicio de asistencia técnica

Para obtener más información, póngase en contacto con su distribuidor o con los expertos en asistencia técnica:

Región	Teléfono	Dirección de correo electrónico
Europe & Middle East	+ 44 161 483 9032	EMEproductsupport@alere.com
Asia Pacific	+ 61 7 3363 7711	APproductsupport@alere.com
Africa, Russia, & CIS	+ 972 8 9429 683	ARCISproductsupport@alere.com
Latin America	+ 57 2 66 18797	LAproductsupport@alere.com

Manufactured by
STANDARD DIAGNOSTICS, INC.
65, Borahagal–ro, Giheung–gu, Yongin–si, Gyeonggi–do, Republic of Korea
Tel : 82–31–899–2958 Email : PanbioTS@alere.com
www.alere.com

Authorized Representative
MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80 D–66386 St. Ingbert Germany
Phone : +49 6894 581020, Fax : +49 6894 581021

PANBIO ELISA PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DEL DENGUE 01PE40

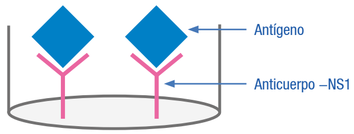
⚠ **No agite los controles en el vórtex. Mezcle bien por inversión o pipeteando con suavidad.**

◆ – Antígeno

1. Agregue 75 µL de diluyente para muestra a 75 µL de cada muestra y los controles. La dilución final es de 1 en 2.

2. Agregue 100 µL de controles y muestras diluidas a la placa de la prueba.

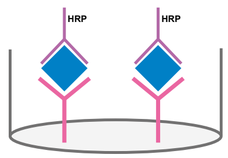
PLACA DE LA PRUEBA



3. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.

4. Lave la placa de la prueba seis (6) veces.

5. Agregue 100 µL de MAb anti–NS1 conjugado con HRP a cada pocillo de la placa de la prueba.



6. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.

7. Lave la placa de la prueba seis (6) veces. Después del último lavado, agregue 100 µL de TMB por pocillo e incube a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) durante 10 minutos. Detenga la reacción con 100 µL de solución de parada y realice la lectura a 450 nm (filtro de referencia entre 600 y 650 nm).

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

	Fabricante	CONTROL CAL	Calibrador
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea	CONTROL CAL DEN	Calibrador del dengue
REF	Número de catálogo	CONTROL CAL JE	Calibrador de EJ
IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*	CONTROL CO CAL	Calibrador de puntos de corte
LOT	N.º de lote	RF	Factor reumatoide
	Límite de temperatura	SAMP ABS	Absorbente de la muestra
		CONJ	Conjugado
YYYY.MM.DD	Fecha de caducidad	SAMP DIL	Diluyente para muestra
Σ (X)	Contenido suficiente para X pruebas	Ag	Antígeno
CE	Marcado CE conforme a la Directiva 98/79 CE relativa a los productos sanitarios para diagnóstico in vitro	Ag DIL	Diluyente para antígeno
	Precaución	Ag DEN	Antígenos 1 a 4 del dengue
	Consultar las instrucciones de uso	Ag JE	Antígeno de la EJ
MW Ag	Micropocillos recubiertos de antígenos	WASH BUF 20 X	Tampón de lavado 20x
MW Ab	Micropocillos recubiertos de anticuerpos	SUBS TMB	Sustrato de tetrametilbencidina
CONTROL +	Control positivo	SOLN STOP	Solución de parada
CONTROL –	Control negativo	AVD	Reactivo de avidez tamponado
CONTROL R	Control reactivo		

GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Valores de absorbancia altos	1. Contaminación cruzada con otras muestras.	▶ Repetir la prueba teniendo cuidado al lavar y pipetear.
	2. Lavado o lectura insuficiente o ineficaz.	▶ Comprobar la eficacia del dispositivo de lavado.
	3. La longitud de onda del filtro no es correcta.	▶ Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600–650 nm.
	4. Nivel de fondo alto.	▶ Repetir el ensayo e incluir un pocillo que solo contenga diluyente para muestra o absorbente de la muestra (es decir, un pocillo de blanco).
	5. TMB contaminada.	▶ Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	6. Tiempo de incubación demasiado largo o temperatura de incubación demasiado alta.	▶ Comprobar el tiempo y la temperatura de incubación. ▶ Comprobar que la incubadora está a la temperatura correcta.
	7. Dilución incorrecta del suero.	▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
Valores de absorbancia bajos	1. Tiempo de incubación demasiado corto o temperatura de incubación demasiado baja.	▶ Asegurarse de que el tiempo y la temperatura de incubación del ensayo son correctos. ▶ Comprobar que la incubadora está a la temperatura correcta.
	2. Dilución o pipeteado incorrecto del suero.	▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar las diluciones y los volúmenes correctos. ▶ Asegurarse de que los controles estén bien mezclados.
	3. Longitud de onda del filtro incorrecta.	▶ Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600–650 nm.
	4. Solución del conjugado contaminada.	▶ Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ▶ No devolver el conjugado no utilizado al frasco. ▶ Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
	5. El kit ha caducado.	▶ Comprobar la fecha de caducidad del kit y no usarlo si está caducado.
	6. Lectura alta del blanco de aire.	▶ Investigar las causas de la alta absorbancia del fondo.
	7. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	8. Los reactivos del kit no se han estabilizado a temperatura ambiente.	▶ Esperar suficiente tiempo a que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente antes del ensayo.
	9. Uso de reactivos incorrectos.	▶ Comprobar que los reactivos utilizados coinciden con los indicados en la hoja de especificaciones.
	10. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	11. Lavado insuficiente de la placa después del paso de incubación del suero (p. ej., lavado insuficiente durante el paso de lavado).	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
Duplicados deficientes	1. Mezcla de las muestras insuficiente.	▶ Mezclar los reactivos suavemente y estabilizar a temperatura ambiente.
	2. Baja precisión de la pipeta.	▶ Puede que haya que comprobar la calibración. ▶ Comprobar la técnica de pipeteado. Cambiar la punta de la pipeta para cada muestra y asegurarse de retirar el líquido sobrante del exterior de la punta.
	3. Adición de reactivos a intervalos no constantes; la adición del reactivo es demasiado lenta, se forman burbujas de aire al agregar los reactivos.	▶ Usar intervalos constantes durante la adición de los reactivos. ▶ Asegurarse de realizar todas las diluciones antes de empezar a añadir nada a la placa. ▶ Mejorar la técnica y la velocidad de pipeteado
	4. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	▶ Dar unos golpecitos para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ▶ Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	5. Lector no calibrado o precalentado antes de la lectura de la placa.	▶ Comprobar la precisión del lector. ▶ Consultar el manual del lector para confirmar el tiempo de precalentamiento del instrumento.
	6. La óptica no está limpia.	▶ Limpiar suavemente la parte inferior de la placa. ▶ Comprobar que la fuente de luz y el detector del lector están limpios.
	7. Derrame de líquido de los pocillos.	▶ Repetir la prueba, teniendo cuidado de no golpear la placa ni salpicar líquido.
	8. Las muestras de suero tienen crecimiento microbiano, hemólisis o lipidemia.	▶ No se recomienda usar muestras de suero con signos de crecimiento microbiano, hemólisis o lipidemia.
	9. Los volúmenes de los pocillos son desiguales debido a la evaporación.	▶ Cubrir la placa con una tapa o un sellador de placas (no suministrados).
Todos los pozos son amarillos	1. TMB contaminada.	▶ Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	2. Reactivos contaminados (conjugado o tampón de lavado).	▶ Comprobar si los reactivos presentan turbidez.
	3. Dilución incorrecta del suero.	▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	5. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	▶ Dar unos golpecitos para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ▶ Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	6. Si es necesario reconstituir el conjugado – Conjugado reconstituido incorrectamente.	▶ Repetir la prueba comprobando que el conjugado se reconstituye según el método del ensayo.
Todos los pocillos son negativos	1. La prueba no se realizó correctamente. No se agregaron los reactivos correctos o no se agregaron en el orden correcto.	▶ Consultar el procedimiento y comprobar si hay reactivos sin usar. ▶ Comprobar que la solución de parada no se haya agregado antes que el conjugado o la TMB. ▶ Comprobar que el suero se diluyó con el diluyente para muestra correcto; p. ej., no usar absorbente de la muestra para un ensayo ELISA de IgG.
	2. Solución del conjugado contaminada.	▶ Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ▶ No devolver el conjugado no utilizado al frasco. ▶ Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
	3. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	5. El tampón de lavado se ha hecho con solución de parada en lugar de tampón de lavado concentrado.	▶ Comprobar que el tampón de lavado se ha preparado correctamente.

Adeno Respi-Strip

Fabricante:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
Rue Jean Sonet 4A
B – 5032 GEMBLOUX
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Producido en BÉLGICA

www.corisbio.com

IFU-5709/ES/13

Prueba rápida de diagnóstico <u>in vitro</u> para la detección del Adenovirus Respiratorio en secreciones nasofaríngeas

PARA USO <u>IN VITRO</u> **ES**

SOLO PARA USO PROFESIONAL

Referencias: C-1009, 25 pruebas por kit

I. INTRODUCCIÓN

Los adenovirus causan infecciones respiratorias y oftalmológicas y representan aproximadamente del 5 al 10% de las infecciones virales respiratorias. Se trata de virus con ADN bicatenario, sin envoltura, icosaédricos, de 80 nm de diámetro. Estos virus causan un amplio espectro de infecciones humanas, como faringitis, neumonía, conjuntivitis, cistitis hemorrágica y diarrea. Entre los 49 serotipos, divididos en 6 subgrupos, sólo los serotipos 40 y 41 se han asociado claramente a gastroenteritis.

Los adenovirus infectan a la mayoría de los niños en edades tempranas, provocando congestión nasal y tos, mientras que la faringitis es más habitual en niños de más edad. Se sabe que estos virus causan brotes de infecciones en vías respiratorias superiores e inferiores, probablemente favorecidos por el hacinamiento y situaciones de estrés. En adultos jóvenes, las enfermedades se caracterizan por faringitis y conjuntivitis. Se han identificado varias infecciones por adenovirus, incluida la neumonía, en pacientes inmunodeprimidos.

Todos los serotipos son endémicos y pueden provocar infecciones respiratorias que, en ocasiones, afectan al ojo. De los 49 serotipos, las infecciones por los tipos 2, 3, 5 y 7 son las más frecuentes.

Se sabe que el virus se contagia por aerosolización y por contacto directo e induce una intensa respuesta inmunológica. Por lo general, las infecciones son leves, excepto en los pacientes inmunocomprometidos, en los que puede ser mortal.

II. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Esta prueba está lista para ser utilizada y se basa en una tecnología de membrana con nanopartículas de oro coloidal. Se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con anticuerpos monoclonales frente a antígenos de adenovirus específicos. La especificidad de la prueba se debe a un anticuerpo monoclonal frente a antígenos específicos del hexón. Se conjuga al oro coloidal. El conjugado se inmoviliza en una membrana.

Esta prueba tiene como objetivo la detección del adenovirus respiratorio tanto en las secreciones nasofaríngeas como en el sobrenadante del cultivo tras varios días, con el fin de lograr una mejor sensibilidad.

Cuando la solución de extracción de las secreciones nasofaríngeas o la solución extraída del cultivo entran en contacto con la tira, el conjugado solubilizado migra con la muestra mediante difusión pasiva y tanto el conjugado como el material de la muestra entran en contacto con el anticuerpo frente al adenovirus adsorbido en la tira de nitrocelulosa. Si la muestra contiene adenovirus, el complejo de conjugado-adenovirus permanecerá unido al anticuerpo frente al adenovirus adsorbido en la nitrocelulosa. El resultado es visible a los 15 minutos en forma de una línea roja que aparece en la tira. La solución continúa migrando hasta que se encuentra con un reactivo de control que se une a un conjugado de control, produciendo una segunda línea roja.

III. REACTIVOS Y MATERIALES

1. Adeno Respi-Strip (25)
Las tiras se suministran en un frasco con un desecante.

2. Tampón de dilución HC (15 mL)
Solución salina tamponada a un pH de 7,5 que contiene Tris, EDTA, NaN_3 (<0,1%), un detergente y proteínas de bloqueo.

3. Instrucciones de uso (1)

4. Materiales requeridos
- Tubos de ensayo de 3 mL o 5 mL
- Material de toma de muestras

<u>Materiales que deben solicitarse por separado:</u>
- Control positivo de Adenovirus (Ref.: C-1082)
- Control negativo (Ref.: CTR-1000)

IV. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Todas las operaciones vinculadas con el uso de la prueba deben realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (BPL).
- Todos los reactivos son sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.
- Evite tocar con los dedos la nitrocelulosa.
- Al manipular las pruebas, utilice guantes.
- No utilice nunca los reactivos de otro kit.
- Este se debe volver a sellar tan pronto como se haya retirado la cantidad de tiras necesarias para la operación, ya que las tiras son sensibles a la humedad. Asegúrese de que la bolsa de desecante está presente.
- Las líneas verdes indican los lugares de adsorción de los inmunorreactivos. El color verde desaparece durante la prueba.
- La calidad de los reactivos no se puede garantizar tras el vencimiento del período de caducidad o si los reactivos no se conservan en las condiciones requeridas, como se indica en el folleto.
- Para evitar diluir el conjugado de oro coloidal en la solución, procure no sumergir la tira por encima de la línea indicada bajo las flechas impresas en el adhesivo.

V. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

- Deseche los guantes, hisopos, tubos de ensayo y accesorios utilizados de acuerdo con las BPL.
- Cada usuario es responsable de la gestión de los residuos producidos y debe asegurarse de que se eliminan de acuerdo con la legislación vigente.

VI. CONSERVACIÓN

- Un kit sin abrir se puede mantener entre 4 y 30°C y utilizarlo durante el período de validez indicado en el envase.
- Después de abrir el frasco, las tiras se mantienen estables durante 15 semanas (en el envase cerrado) si se guardan entre 4 y 30°C y en un entorno seco.
- Evite congelar la tira y el tampón.

VII. MANIPULACIÓN Y RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras que se van a analizar se deben obtener y manipular mediante métodos estándar de recogida de aspirados nasofaríngeos, lavados nasofaríngeos o frotis nasales/nasofaríngeos.[1]

Las muestras se deben procesar lo más pronto posible después de la recogida. Si no se utilizan inmediatamente, se deben almacenar entre 2 y 8°C o congelar a -20°C para períodos de tiempo prolongados, en función del medio de transporte utilizado. Los hisopos Copan Flock con el medio de transporte universal Copan se pueden almacenar entre 2 y 8ºC durante 72 horas antes de realizar las pruebas.

Los medios de transporte siguientes se han probado y considerado compatibles con los kits respiratorios Coris BioConcept: M4 y M5 de Remel (Oxoid), medio Virocult (MWE), BSS de Hank utilizado en medio Vircell, RPMI y Ameis sin carbón vegetal. El medio de transporte Stuart y el medio Amies con carbón vegetal no son compatibles con este dispositivo.

Coris BioConcept recomienda el uso de los hisopos fibrosos (Flocked Swabs) de Copan Flock Technologies para garantizar las mismas prestaciones que cuando se utilizan los aspirados o lavados nasofaríngeos. No se ha comprobado la eficacia de los hisopos de otras marcas con nuestros kits respiratorios. Se recomienda encarecidamente evitar el uso de esputos o saliva, ya que los resultados podrían no ser válidos.

Asegúrese de que las muestras no se tratan con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados.

VIII. PROCEDIMIENTO

<u>PREPARATIVOS PARA LA PRUEBA</u>:
Deje que los componentes del kit, dentro del envase sin abrir, y las muestras alcancen la temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) antes de realizar una prueba.

Una vez abierta, realice la prueba inmediatamente. Indique el nombre del paciente y el número de muestra en el tubo. Coloque los tubos de ensayo marcados en una gradilla.

<u>PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA</u>:
No podemos confirmar los resultados obtenidos gracias a muestras otras que NSP. Recomendamos el uso de muestras NSP frescas para un resultado óptimo.

Preparare un tubo para recogida de muestras

SI **A. Líquido**

La muestra consiste en lavados y/o aspirados nasofaríngeos líquidos o sobrenadante de cultivo.

SI **B. Hisopo en medio de transporte líquido**

El hisopo está protegido con un medio de transporte, un gel o una matriz de esponja.

- Retire el medio del hisopo presionando su matriz contra el recipiente que contiene el hisopo.

SI **C. Hisopo seco**

No hay un medio de dilución con el hisopo.

- mezcle **7** gotas del tampón de dilución HC con 250 µL de solución salina.
- Moje el hisopo en el tampón. Gírelo.
- Escúrralo presionándolo contra la pared del tubo.

- Transfiera **200 µL** de la muestra al tubo.
- Añada **6** gotas del Tampón de dilución HC hasta alcanzar una relación de dilución de 1/2.

Agite bien para homogeneizar la solución.

Sumerja la varilla en el tubo de ensayo siguiendo el sentido indicado por la fleche.

Deje la varilla hundida **15 minutos** antes de leer el resultado

Los resultados positivos se pueden comunicar en el momento en que resulten visibles las líneas de prueba y control.

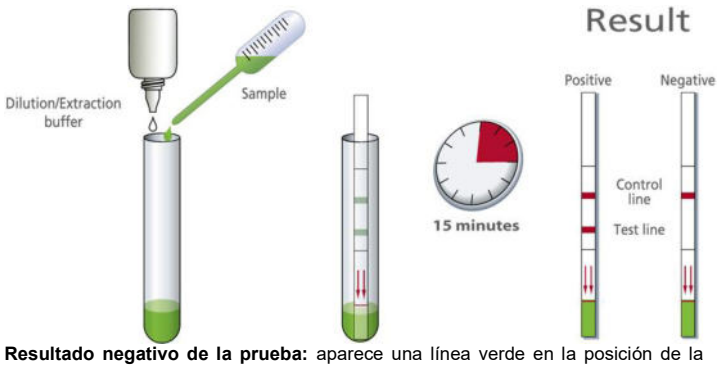
No tenga en cuenta la aparición de nuevas líneas una vez sobrepasado el tiempo de reacción.

Los resultados se deben leer en tiras todavía húmedas.

[1] Hall, C.B., Douglass, RG., Jr., and Geiman, M. 1975. Clinically useful method for the isolation or Respiratory Syncytial Virus. *J. Infect. Dis* 131: 1-5.

IX. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se deben interpretar del modo siguiente:



Resultado negativo de la prueba: aparece una línea verde en la posición de la línea de control (C) (línea superior). No aparece ninguna otra banda.

Resultado positivo de la prueba: además de una banda verde en la línea de control (C), aparece una banda rojiza purpúrea visible en la posición de la línea de prueba (T). La intensidad de la línea de prueba puede variar en función de la cantidad de antígenos encontrados en la muestra. Cualquier línea (T) rojiza purpúrea, incluso débil, debe considerarse como un resultado positivo.

Resultado no válido de la prueba: La ausencia de una línea de control indica un fallo en el procedimiento de la prueba. Repita las pruebas no válidas con un nuevo dispositivo de prueba.

Nota: durante el proceso de secado, puede aparecer una sombra muy ligera en la posición de la línea de prueba. No debe considerarse como un resultado positivo.

X. CONTROL DE CALIDAD

De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda comprobar periódicamente el rendimiento de las pruebas en función de los requisitos del laboratorio. Moje la tira en 400 µL de control preparado (consulte las instrucciones de uso de CTR-1000 o C-1082).

XI. RESULTADOS

A. Límite de detección

El límite de detección se realizó con un virus cuantificado (antígeno de adenovirus 5) y se ha evaluado a $1x10^6$ vp/mL.

B. Sensibilidad - Especificidad (correlación):

El kit se ha validado (por terceros) en comparación con otras 2 pruebas competitivas de ICT en 127 frotis faríngeos. Se obtuvieron los resultados siguientes:

ICT 1 / Coris BioConcept	Positiva	Negativa	Total
Positiva	48	3[b)]	51
Negativa	4[a)]	72	76
Total	52	75	127

a) 3 cultivos negativos, 1 cultivo positivo
b) Todos los cultivos negativos

		95 % Intervalo de confianza[2]
Sensibilidad:	92.3 %	(80.6 – 97.5 %)
Especificidad:	96 %	(88 – 99 %)
Valor predictivo positivo:	94.1 %	(82.8 – 98.5 %)
Valor predictivo negativo:	94.7 %	(86.4 – 98.3 %)
Fiabilidad:	94.5 % (120/127)	

ICT 2 / Coris BioConcept	Positiva	Negativa	Total
Positiva	47	4[d)]	51
Negativa	3[c)]	73	76
Total	50	77	127

c) Todos los cultivos negativos
d) 2 cultivos positivos, 2 cultivos negativos

		95 % Intervalo de confianza[2]
Sensibilidad:	94 %	(82.5 – 98.4 %)
Especificidad:	94.8 %	(86.5 – 98.3 %)
Valor predictivo positivo:	92.2 %	(80.3 – 97.5 %)
Valor predictivo negativo:	96.1 %	(88.1 – 99 %)
Fiabilidad:	94.5 % (120/127)	

C. Precisión

Para verificar la precisión dentro de un mismo lote, se procesaron 15 veces las mismas muestras positivas y una solución de tampón de kits del mismo lote de producción, bajo las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados se confirmaron según lo previsto.

Para verificar la precisión entre los lotes, se procesaron algunas muestras (positivas y de tampón) en kits de tres lotes de producción diferentes. Todos los resultados se confirmaron según lo previsto.

D. Interferencias

Se analizó la reactividad cruzada de muestras positivas para los patógenos siguientes y se demostró que era negativa: Influenza A, Influenza B, Herpes virus, Rhinovirus, *Streptococcus pneumonia, Streptococcus pyogenes, Candida albicans, Aspergillus niger,* Enterovirus, *Nocardia asteroides, Moraxella catarrhalis, Legionella pneumophila*, RSV, *Mycoplasme pneumoniae*, *Parainfluenzae* type III, *Cryptosporidium parvum, Campylobacter jejuni, Giardia lamblia,* Rotavirus, *E. coli 0157: H7, Salmonella thyphimurium, Salmonella enteritidis, Yersinia enterocolitica, Helicobacter pylori, Aeromonas hydrophila, Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemanii*, *Legionella longbeachae*, *Neiserria meningitidis*, *Staphylococcus epidermidis*.

Se han realizado pruebas de reactividad cruzada a *Staphylococcus aureus* y han sido positivas a una concentración elevada de bacterias (10^9 ufc/mL).

XII. LÍMITES DEL KIT

Esta es una prueba cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Debe tenerse en cuenta la presentación clínica y los resultados de otras pruebas para establecer un diagnóstico.

Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que pueda haber otros patógenos presentes.

La prueba del kit es una prueba de detección en fase aguda. Las muestras recogidas tras esta fase pueden contener títulos de antígenos inferiores al umbral de sensibilidad del reactivo. Si una muestra presenta un resultado negativo a pesar de los síntomas observados, deberán realizarse otras pruebas relevantes para comprobar la muestra.

XIII. PROBLEMAS TÉCNICOS / RECLAMACIONES

Si surge un problema técnico o si los resultados no coinciden con los indicados en el prospecto de este envase:

1. Registre el número de lote del kit correspondiente
2. Si es posible, conserve la muestra problemática en el congelador mientras dure la gestión de la reclamación
3. Póngase en contacto con Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o con su distribuidor local

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A. **Van Beers D., Chaker S., De Foor M., Viehoff R.**; *Comparison of a Rapid Immunochromatographic Diagnostic Test with Viral Culture to Detect Adenovirus in Respiratory Specimens.;* Posters/Journal of Clinical Virology 27, p. 33., 2003

B. **Renuart I., Mertens P., Leclipteux Th.** : *Adeno Respi-Strip, an Immunochromatographic Test for the Detection of Respiratory Adenovirus.;* European Biotech Crossroads, October 15-16 – Lille-Grand Palais-France, 2002.

Última actualización: NOVIEMBRE 2013

REF	Número de catálogo		Fabricado por
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Límites de temperatura
	Contenido suficiente para <n> pruebas	DIL SPE	Diluyente (Muestra)
	Consulte las instrucciones de uso		No reutilizar
	Mantenga en lugar seco		Fecha de caducidad
DIL AS	Diluyente (Ensayo)	CONT NaN_3	Contiene azida sódica

[2] Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine,* **17**, 857-872 (1998).

Dynamiker Biotechnology (Tianjin) Co., Ltd.

Ensayo de flujo lateral de antígeno criptocócico (LFA)

N.º de catálogo: DNK-1411-1

Manual del usuario / 40 pruebas

CONTENIDO

1. USO PREVISTO 1
2. INTRODUCCIÓN 1
3. PRINCIPIO 1
4. COMPONENTES 2
5. ALMACENAMIENTO Y FECHA DE VENCIMIENTO 2
6. TOMA DE MUESTRAS y PREPARACIÓN 2
7. PROCEDIMIENTO 2
8. INTERPRETACIÓN de los RESULTADOS 3
9. LIMITACIONES DE METODOLOGÍA 4
10. PRECAUCIONES 4
11. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO 4
12. REFERENCIA 6
13. FABRICANTE 6

CE

1. USO PREVISTO

Prueba de inmunocromatografía rápida para la detección de antígenos polisacáridos capsulares de especies complejas de *Cryptococcus* (*Cryptococcus neoformans y Cryptococcus gattii*) en el suero humano y en el líquido espinal cerebral (LCR).

2. INTRODUCCIÓN

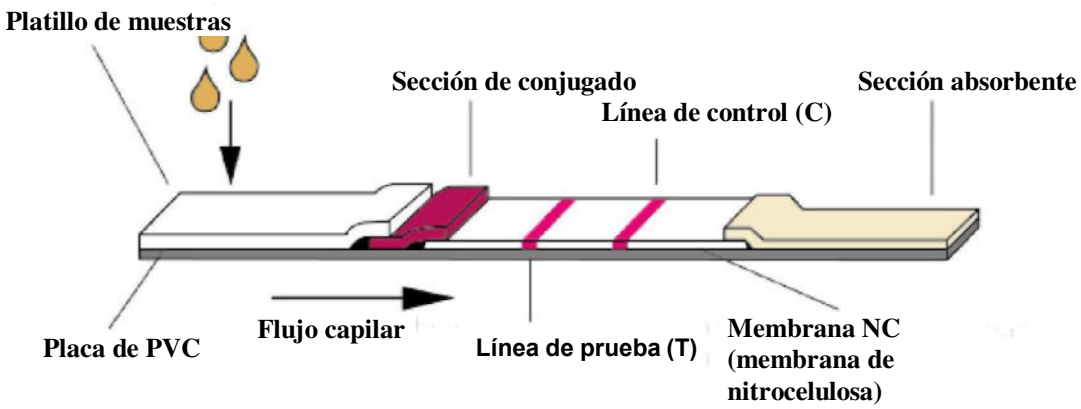
Los *Cryptococcus* spp. son patógenos oportunistas importantes que suelen relacionarse con la meninges y las infecciones pulmonares y cutáneas. La meningitis *Cryptococcus Neoformans* (CNM) es la infección más frecuente que se produce en el sistema nervioso central[1]. En los últimos años, la CNM ha aumentado significativamente su índice de morbilidad y mortalidad. Según las estadísticas, la prevalencia de la meningitis por *Cryptococcus* en los Estados Unidos es aprox. de un 5% a 10% en pacientes con SIDA, encontrándose una mayor tasa de incidencia en determinados países en desarrollo[2]. Por su parte, el *Cryptococcus Neoformans* infecta el sistema respiratorio y provoca un aumento anual de la criptococosis pulmonar.

El ensayo de flujo lateral de antígeno criptocócico (LFA) es un ensayo de laboratorio con prescripción que ofrece una ayuda a la hora de diagnosticar la criptococosis.

3. PRINCIPIO

El producto usa la técnica de flujo lateral y un formato de sándwich de doble anticuerpos. Los anticuerpos de *Cryptococcus* conjugados con partículas de oro vienen revestidos en fibra de vidrio. La línea de prueba (T) y la línea de control (C) en la membrana de nitrocelulosa están revestidas con anticuerpos de *Cryptococcus* y anticuerpos anti-cabra y anti-ratón, respectivamente. Los antígenos criptocócicos en las muestras forman complejos de anticuerpos-antígenos con anticuerpos conjugados con oro y siguen migrando a lo largo de la membrana de nitrocelulosa. Los anticuerpos de *Cryptococcus* inmovilizados en la línea de prueba (T) interactúan con los complejos anteriores y ocasionan una línea roja visible. La absorción de las muestras provoca anticuerpos conjugados sin oro para alcanzar la línea de control (C) y una forma de color rojo. La ausencia de antígenos criptcócicos en las muestras negativas solo ocasionan un cambio de color en la línea de control (C). Por lo tanto, la línea de control está incluida como el estándar de control de calidad para asegurarse de que la prueba está validada visualmente para su correcto funcionamiento.

Las muestras se añaden al platillo de muestras y la prueba puede lograrse en un intervalo de 15-20 minutos.



CE

4. COMPONENTES

	Componentes
Kit de prueba	40 paquetes de pruebas, instrucciones de uso
Paquete	Casette de Prueba, desecante, bolsa de hoja de aluminio
Prueba	Línea de prueba (T): revestida con anticuerpos criptocócicos con la concentración adecuada: línea de control (C): revestida con anticuerpos anti-cabras y anti-ratón con la concentración adecuada; sección de conjugado: revestida con anticuerpos criptocócicos conjugados con oro con la concentración adecuada
Control Positivo	Antígeno Cryptococcal, Solución PBS
Control Negativo	Solución PBS

5. ALMACENAMIENTO y FECHA DE VENCIMIENTO

1. La prueba debería guardarse a 2-30ºC a oscuras y en un lugar seco durante 18 meses. NO congele la prueba.
2. Se recomienda usar la prueba en un intervalo de 0,5 horas después de abierta.

6. TOMA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

1. Tome las muestras conforme a los procedimientos de laboratorio estándar. Evite la contaminación cruzada entre las muestras. El etiquetado de la muestra debe ser claro y correcto sin ningún error.
2. No se aplican las muestras con hemólisis grave y elevada viscosidad.
3. Estabilidad de la muestra y almacenamiento

3.1 Transporte de la muestra

Las muestras deben estar congeladas durante el transporte. El transporte de la muestra debe cumplir los requisitos de bioseguridad.

3.2 Almacenamiento de la muestra

Las muestras pueden almacenarse de 2-8ºC por un período de hasta 24 horas. En caso de precisar mayor tiempo de almacenamiento, guarde las muestras a -20ºC. Evite la repetida congelación y descongelación.

7. PROCEDIMIENTO

PRUEBA CUALITATIVA:

1) Consulte las instrucciones de uso atentamente antes de realizar la prueba.
2) Antes de realizar la prueba, asegúrese de que las pruebas y las muestras están a temperatura ambiente.
3) Coloque las muestras sobre una superficie plana y limpia, dispense 80µL de muestras y añádala lentamente sobre el platillo de muestra.
4) Consulte y registre los resultados después de 15 minutos (no deje pasar más de 20 minutos). Transcurridos 20 minutos pueden producirse resultados anómalos.

DETECCIÓN SEMICUANTITATIVA:

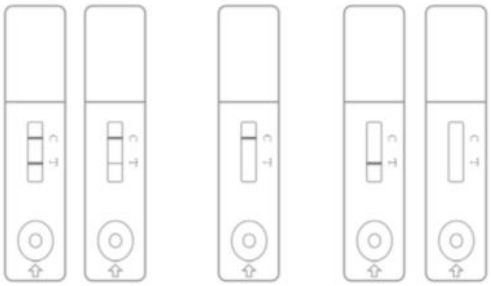
1) Antes de realizar la prueba, asegúrese de que las pruebas y las muestras están a temperatura ambiente.
2) Prepare las diluciones partiendo de una dilución inicial de 1:5, seguidas por diluciones en serie de hasta 1:2560.
3) Coloque 10 tubos de centrifugadora en el estante apropiado y etiquételos 1-10 (1:5 por 1:2560) Es posible que sean necesarias diluciones adicionales si el especímen es positivo en 1:2560.
4) Añada 400µL de dilución de muestras (salina normal) a cada tubo #1-10.
5) Añada 100µL de muestra al tubo #1 y mezcle bien.

CE

6) Transfiera 100µL de especímen del tubo #1 al tubo #2 y mezcle bien. Continúe este procedimiento de dilución a través del tubo #10.
7) Abra el paquete de pruebas, coloque las tiras de pruebas sobre un banco plano y limpia, dispense 80µL de muestras y añádala lentamente sobre un platillo de muestras.
8) Consulte y registre los resultados después de 15 minutos (no deje pasar más de 20 minutos). Transcurridos 20 minutos pueden producirse resultados anómalos.
9) El título del paciente debe anotarse como la dilución más alta que brinda un resultado positivo.

Nota: Centrifugue la muestra si no hay acción capilar después de añadir las muestras al pocillo.

8. INTERPRETACIÓN de los RESULTADOS



Positiva Negativa No válida

Positiva (+): La presencia de dos líneas rojas, la línea de prueba (T) y la línea de control (C), indica que hay antígenos criptocócicos presentes en las muestras.
Negativa (-): La aparición de la línea de control simple (C), y ninguna línea de prueba roja (T), indica la ausencia de antígenos criptocócicos o una cantidad limitada (inferior a la del límite de ensayo de detección) de antígenos criptocócicos en las muestras.
No válida: No aparece ninguna línea de control roja (C). Los resultados no válidos pueden deberse a un manejo inadecuado o a una pérdida de eficacia de las pruebas. Repita primero la prueba, si el problema persiste, deje de usar los productos del mismo lote y póngase en contacto con su distribuidor local para obtener asistencia técnica.
Nota:

1. La intensidad del color rojo en la línea de prueba (T) es proporcional a la del título de los antígenos criptocócicos en las muestras. No obstante, los resultados de las pruebas no podrán utilizarse como referencia para indicar el nivel de título del antígeno criptocócico en las muestras.
2. Debería repetirse la prueba y realizarse una prueba confirmatoria sobre las muestras positivas.

CONTROL DE CALIDAD

1. En la prueba se incluyen los controles de procedimiento internos. Una cinta coloreada que aparece en la región de control (C) se considera como un control de procedimiento positivo interno. Esto confirma el volumen suficiente de especímenes y la técnica de procedimiento correcta.
2. Los controles externos se proporcionan (por petición solamente) en los kits para para garantizar que las pruebas están funcionando correctamente. Igualmente, también podrán utilizarse los controles para demostrar el rendimiento adecuado por parte del control de la prueba. Para realizar una prueba de Control Negativo o Positiva, complete los pasos en la sección de

CE

procedimiento cualitativo con el control Positivo y el Tampón de valoración (o titulación) como Cntrol Negativo.

9. LIMITACIONES de METODOLOGÍA

1. El ensayo no ha sido establecido para aquellas matrices distintas del líquido cefalorraquídeo humano y el suero.
2. Puesto que el ensayo está desarrollado para la detección cualitativa, no está disponible la cuantificación de los antígenos criptocócicos en las muestras.
3. Los resultados positivos indican la presencia de antígenos criptocócicos en las muestras, en vez de un estándar de diagnóstico de la infección por *Cryptococcus.* Para lograr el diagnóstico es necesario repetir la prueba y realizar la prueba confirmatoria.
4. El ensayo tiene un límite de detección (LOD). Los resultados negativos no podrán utilizarse para descartar una infección por *Cryptococcus*.

10. PRECAUCIONES

1. El producto es solo para el diagnóstico in vitro.
2. Antes realizar la prueba, es necesario inspeccionar el envase del producto y el sellado, así como la fecha de vencimiento.
3. Vuelva a tomar las muestras para la prueba en caso de hemólisis grave.
4. Las pruebas pueden guardarse a temperatura ambiente. Asegúrese de que las pruebas están alejadas de la humedad. Las pruebas almacenadas a baja temperatura (NO CONGELAR) deberían atemperarse a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.
5. La prueba debería realizarse lo antes posible. Una exposición prolongada de la prueba al aire y a la humedad puede provocar unos resultados no válidos.
6. La sobrecarga de muestras puede conducir a unos resultados imprevistos, tales como falsos positivos.
7. La precisión de la prueba puede verse afectada por la temperatura del entorno (<10^{o}C o >40^{o}C) y la humedad relativa (>80%).

11. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

LÍMITE DE DETECCIÓN

Para establecer el límite de detección, se llevó a cabo un experimento C_5- C_{95} mediante la dilución de antígeno criptocócico purificado por medio del tampón de valoración y la prueba de 40 réplicas por concentración utilizando el ensayo de flujo lateral de DNK CrAg. Los resultados de esta prueba se muestran en la siguiente tabla:

Concentración	Número positivo	Tasa positiva %
0,075 ng/ml	0	0% (0/40)
0,10 ng/ml	0	0% (0/40)
0,25 ng/ml	0	0% (0/40)
0,50 ng/ml	15	37,5% (27/40)
0,75 ng/ml	27	67,5% (32/40)
1,00 ng/ml	38	95% (38/40)
1,25 ng/ml	40	100% (40/40)
1,50 ng/ml	40	100% (40/40)
1,75 ng/ml	40	100% (40/40)

CE

2,00 ng/ml	40	100% (40/40)
2,25 ng/ml	40	100% (40/40)

Intervalo C_5-C_{95}	0,5-1,0 ng/mL

PRECISIÓN

El ensayo de flujo lateral DNK CrAg fue comparado con los diagnósticos estándar con oro de la cryptococosis (cultivo y/o tinta india) para evaluar la sensibilidad y la especificidad del ensayo. Estos estudios contienen una mezcla tanto de especímenes prospectivos como retrospectivos. A continuación se incluye una tabla resumida de los datos recopilados.

LCR	Cultivo/ tinta india		
DNK CrAg LFA		Positiva	Negativa
	Positiva	121	0
	Negativa	0	229
Sensibilidad:100% (97.91%-100%)* Especificidad:100% (96.16%-100%)* Concordancia:100% (96,72%-100%)* *95% IC			

Suero	Cultivo/ tinta india		
DNK CrAg LFA		Positiva	Negativa
	Positiva	79	2
	Negativa	0	198
Sensibilidad: 100% (97,63%-100%)* Especificidad: 99% (90,54%-99,57%)* Concordancia: 99,28% (97,28%-99,97%)* *95% IC			

COMPARACIÓN MÉTODO ELISA

El ensayo de flujo lateral DNK CrAg fue evaluado utilizando el ensayo de antígenos de *Cryptococcus neoformans* de Dynamiker (ELISA) con 300 muestras de suero. Los resultados se muestran debajo:

Suero	Ensayo de antígenos de *Cryptococcus neoformans* de Dynamiker		
DNK CrAg LFA		Positiva	Negativa
	Positiva	105	4
	Negativa	0	191
Concordancia positiva: 100% (97,54%-100%)* Concordancia negativa: 97,94% (90,32%-98,82%)* *95% IC			

INTERFERENCIA

CE

El ensayo de flujo lateral DNK CrAg fue evaluado para la reactividad cruzada frente a un panel de especímenes de sueros del paciente a través de una variedad de diferentes patologías. Los resultados se muestran debajo.

Candidiasis	*Aspergillosis*
Histoplasmosis	*Coccidiodomycosis*
Blastomicosis	*Peniciliosis*
Micoplasmosis	*Esporotricosis*
Factor reumatoide	*Sífilis*
HAMA	*Rubéola*
CMV	*Toxoplasmosis*

No se encontró reactividad cruzada para las patologías anteriores.
Los antígenos de las siguientes patologías fueron sometidos a prueba y no mostraron reactividad cruzada.

Candida albicans	*Candida glabrata*
Candida parapsillosis	*Candida tropicalis*
Candida krusei	*Candida dubliniensis*
Aspergillus fumigatus	*Aspergillus flavus*
Aspergillus terreus	*Aspergillus niger*
Staphylococcus pneumoniae	*Virus de la hepatitis A*
Virus de la hepatitis C	*Cladosporium trichoides*
Salmonella typhi	*Estafilococo áureo*
Neisseria meningitidis	*Estafilococo áureo*

EFECTO DE GANCHO EN DOSIS ELEVADAS (EFECTO DE PROZONA)
Aunque no suele darse, unas concentraciones extremadamente elevadas (>0.15 mg/mL) de antígenos criptocócicos pueden provocar unas líneas de prueba débiles y, en casos extremos, resultados de prueba negativos de la producción. En el fecto de prozona la sospecha se da en los resultados de prueba negativos o ligeramente positivos, por lo que debería seguirse el procedimiento de valoración semicuantitativa para excluir los resultados de falsos negativos.

12. REFERENCIA

[1] The capsular dynamics of Cryptococcus neoformans. TRENDS in Microbiology, Vol. 14. No.11.
[2] The capsule of the fungal pathogen Cryptococcus neoformans. Adv Appl Microbiol, 2009, 68: 133–216.

13. FABRICANTE

Compañía: Dynamiker Biotechnology (Tianjin) Co., Ltd
Dirección: No. 14 Building, Eco-Business Park, 2018 Zhongtian Road, Sino-Singapore Tianjin
Código postal: 300467
Tel: +86-022-25264212
Fax: +86-022-25264212
Sitio web: www.dynamiker.com

CE

CE	REP

Nombre de la compañía: Wellkang Ltd.
Dirección: Suite B, 29 Harley Street, LONDRES W1G 9QR, Inglaterra, Reino Unido

[SÍMBOLOS UTILIZADOS]

Símbolo	Descripción
	Utilizado por
	Código de lote
	Fabricante
	No exponga a la luz solar
	Limitación de temperatura
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Marca CE

REVISADO: 12/2017

CE

IMCOLMEDICA S.A.®
IMPORTADORA COLOMBIANA DE ELEMENTOS MÉDICOS

FICHA TECNICA

NOMBRE	RELOJ/CRONOMETRO 4 FUNCIONES, PARA LABORATORIO
CODIGO DE PRODUCTO	04404356
REFERENCIA	SN360
MARCA	KNS



DESCRIPCION PRODUCTO

UNIDAD DE VENTA	UNIDAD
USO	LABORATORIOS CLINICOS, INDUSTRIALES, FARMACEUTICOS.
CARACTERISTICAS	• EL RELOJ TEMPORIZADOR PUEDE CONFIGURAR 4 GRUPOS DE TIEMPO AL MISMO TIEMPO O POR SEPARADO. • CUENTA REGRESIVA ES DE 99 HORAS 59 MINUTOS 59 SEGUNDOS • DISTINTOS SONIDOS DE ALARMA PARA CADA CANAL.

ACCESORIOS INCLUIDOS	N/A
NOTAS TECNICAS	• DIMENSIONES : 93 X 70 X 30 MM / 3,7 X 2,8 X 1,2 PULGADAS • 4 PROGRAMAS POSIBLES • 4 TEMPORIZADORES 99H-59M-59S• RELOJ 12/24H • ALARMA DE 80DB • IMÁN : FIJACION A LA SUPERFICIE • 2 PILAS LR44

Calle 36 Nro. 15-42 Bogotá – Colombia **PBX Administrativo**: (571) 2889858 **Call Center** (571) 2871811
www.imcolmedica.com.co - info@imcolmedica.com.co

Abbott

ID NOW™

INFLUENZA A & B 2

PROSPECTO

ID NOW™
INFLUENZA A & B 2
PROSPECTO

Para su uso con el ID NOW™ Instrument
Para su uso con muestras nasales o nasofaríngeas
Para uso *in vitro* exclusivamente
℞ Only

COMPLEJIDAD CLIA: EXENTO
Se requiere un certificado de exención para realizar esta prueba en un centro exento de CLIA. Para obtener información de exención de CLIA y un certificado de exención, póngase en contacto con su departamento de sanidad local. Existe información adicional de exención de CLIA en el sitio web de los Centros de Servicios Medicare y Medicaid en www.cms.hhs.gov/CLIA.

Si no se siguen las instrucciones o se modifican las instrucciones del sistema de prueba, la prueba ya no cumplirá los requisitos para su clasificación como exenta.

APLICACIONES

El ensayo ID NOW™ Influenza A & B 2 llevado a cabo con el ID NOW Instrument consiste en una prueba molecular rápida de diagnóstico *in vitro* que utiliza una tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos para la detección cualitativa y discriminación del ARN viral de la gripe A y B en hisopos nasales o nasofaríngeos directos y en hisopos nasales o nasofaríngeos eluidos en medios de transporte viral de pacientes con signos y síntomas de infección respiratoria. Está concebido para su uso como ayuda para el diagnóstico diferencial de las infecciones víricas de la gripe A y B en seres humanos, junto con los factores de riesgo clínicos y epidemiológicos. El ensayo no está indicado para detectar la presencia del virus de la gripe C.

Un resultado negativo no excluye la infección por el virus de la gripe; el diagnóstico, el tratamiento o cualquier otra decisión relacionada con la atención al paciente no deberán basarse exclusivamente en estos resultados.

Si se sospecha de una infección por un nuevo virus de la gripe A a partir de los criterios actuales de cribado clínico y epidemiológico recomendados por las autoridades sanitarias, se deben recoger muestras con las debidas precauciones de control contra infecciones por virus nuevos de la gripe virulentos, y se deben enviar al departamento de salud estatal o local para que se realicen las pruebas oportunas. No se debe intentar el cultivo viral en estos casos, salvo que se disponga de un nivel de seguridad biológica superior a 3 (BSL 3+) para recibir y elaborar cultivos con las muestras.

RESUMEN y EXPLICACIÓN de la PRUEBA

La gripe es una infección vírica altamente contagiosa y aguda de las vías respiratorias. Se trata una enfermedad transmisible que se contagia fácilmente a través de la tos y los estornudos por las gotículas aerosolizadas, que contienen el virus vivo. Los brotes de gripe se producen cada año durante los meses de otoño e invierno.[1] Los virus del tipo A suelen presentar una mayor prevalencia que los del tipo B y están asociados a las epidemias más graves de gripe, mientras que las infecciones por el virus del tipo B son, normalmente, más leves.[1]

Un diagnóstico rápido con la máxima sensibilidad posible resulta esencial para la detección fiable de la gripe A y B, ya que permitirá adoptar decisiones terapéuticas inmediatas y eficaces. El diagnóstico rápido de la gripe puede traducirse en una reducción de las hospitalizaciones, una disminución de las complicaciones secundarias y un menor coste de atención hospitalaria, y permitirá la aplicación eficaz de medidas de control contra infecciones.[1, 2]

ID NOW Influenza A & B 2 es una prueba isotérmica de detección rápida (menos de 13 minutos) con instrumento para la detección cualitativa y la diferenciación de la gripe A y de la gripe B a partir de hisopos nasales e hisopos nasofaríngeos (directos y eluidos en medios de transporte viral). Si el ID NOW Instrument se establece en “detección temprana”, se mostrará un resultado positivo para la gripe A o la gripe B inmediatamente después de su detección. El ID NOW Instrument ocupa poco espacio y tiene una interfaz gráfica de usuario fácil de usar para una mayor comodidad en entornos de mucha actividad, como hospitales y entornos point of care. El kit ID NOW Influenza A & B 2 incluye todos los componentes necesarios para realizar un ensayo de la gripe A y B en el ID NOW Instrument.

PRINCIPIOS del PROCEDIMIENTO

ID NOW Influenza A & B 2 es un ensayo múltiple automatizado que utiliza tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos para la detección diferencial y cualitativa de los ácidos nucleicos virales de la gripe A y de la gripe B. Está compuesto por un receptor de muestra, que contiene el tampón de elución; una base de prueba, formada por dos tubos de reacción sellados, que contiene cada uno un sedimento liofilizado; un cartucho de transferencia para la transferencia de la muestra eluida a la base de prueba; y el ID NOW Instrument.

Los tubos de reacción de la base de prueba contienen los reactivos necesarios para la amplificación de la gripe A y la gripe B, respectivamente, así como un control interno. Los mensajeros (similares a los cebadores) diseñados para dirigirse al ARN de la gripe A amplifican una región única del segmento PB2, mientras que los mensajeros diseñados para amplificar el ARN de la gripe B se dirigen a una región única del segmento PA. Para identificar de forma específica cada una de las dianas de ARN amplificado, se emplean balizas moleculares marcadas fluorescentemente.

Para realizar el ensayo, el receptor de muestra y la base de prueba se introducen en el ID NOW Instrument. La muestra se añade al receptor de muestra y se transfiere a través del cartucho de transferencia a la base de prueba, con lo cual se inicia la amplificación de la diana. El instrumento se encarga del calentamiento, la mezcla y la detección, e informa automáticamente de los resultados.

REACTIVOS y MATERIALES

Materiales suministrados

BASE **Bases de prueba:** componentes de plástico naranja que contienen dos tubos de reacción de reactivos liofilizados para la amplificación dirigida del ARN viral de la gripe A y la gripe B.

RCVR **Receptores de muestra:** componentes de plástico azul que contienen 2,5 ml de tampón de elución.

CARTRDG **Cartuchos de transferencia:** componentes de plástico de color blanco utilizados para transferir 2 x 100 µl de extracto de la muestra del receptor de la muestra a la base de prueba.

Hisopos nasales: hisopos estériles para su uso con la prueba ID NOW Influenza A & B 2.

Hisopo de control positivo: el hisopo de control positivo está recubierto con virus inactivados de la gripe A y B.

Hisopo de control negativo: la utilización de un hisopo nasal estéril garantiza la obtención de resultados negativos apropiados.

Pipetas desechables de plástico con capacidad para administrar muestras de MTV de 200 µl

Prospecto del producto

Instrucciones de referencia rápida

Materiales necesarios no suministrados

ID NOW Instrument

Hisopos nasofaríngeos

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. La ley federal restringe la venta de este dispositivo a médicos o por prescripción de un médico titulado (solo en EE. UU.).
3. Para su uso con el ID NOW Instrument.
4. Las características de rendimiento de esta prueba solo han sido establecidas con el tipo de muestra indicado en la sección Aplicaciones. El rendimiento de este ensayo con otros tipos de muestras no se ha validado.
5. Trate todas las muestras como potencialmente infecciosas. Adopte las precauciones universales al manipular las muestras, este kit y su contenido.
6. Para obtener resultados correctos, resulta fundamental recoger, conservar y transportar las muestras debidamente.
7. Deje las piezas de la prueba selladas en las bolsas de aluminio hasta el momento de su uso.
8. No manipule las piezas de la prueba antes ni después de su uso.
9. No utilice el kit después de su fecha de caducidad.
10. No mezcle los componentes de distintos lotes de kits o de otros ensayos de ID NOW.
11. Las soluciones utilizadas para fabricar el hisopo de control positivo se inactivan mediante métodos estándar. Sin embargo, las muestras, los controles y las piezas de la prueba de los pacientes se deben manipular como si pudiesen transmitir enfermedades. Siga las precauciones establecidas para riesgos microbianos durante su uso y eliminación.
12. **Si algún componente del ensayo se cae, se resquebraja, presenta daños o está abierto cuando se recibe, NO LO UTILICE y deséchelo. No use tijeras ni objetos afilados para abrir las bolsas de papel de aluminio, ya que pueden dañar las piezas de la prueba.**
13. No abra el receptor de muestra hasta que no lo haya colocado en el instrumento, ya que evitaría que el tampón de elución alcance la temperatura adecuada y podría afectar a los resultados de la prueba.
14. Si al abrir el receptor de muestra se derrama, limpie el instrumento de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el Manual del usuario del instrumento y cancele la prueba. Repita la prueba con un nuevo receptor de muestra.
15. Todas las piezas de la prueba deben retirarse del instrumento siguiendo las instrucciones de extracción que se muestran en el instrumento y desecharse de acuerdo con la normativa local y nacional. **Las piezas no deben separarse una vez que se hayan montado**.

16. Si se sospecha de una infección por un nuevo virus de la gripe A a partir de los criterios actuales de cribado clínico y epidemiológico recomendados por las autoridades sanitarias, se deben recoger muestras con las debidas precauciones de control contra infecciones por virus nuevos de la gripe virulentos, y se deben enviar al departamento de salud estatal o local para que se realicen las pruebas oportunas. No se debe intentar el cultivo viral en estos casos, salvo que se disponga de un nivel de seguridad biológica superior a 3 (BSL 3+) para recibir y elaborar cultivos con las muestras.
17. Todas las piezas de la prueba son de un solo uso, no las utilice con varias muestras.
18. Las características de la actividad de la gripe A se establecieron cuando los virus de la gripe pandémica A/H3 y A/H1N1 eran los virus de la gripe A en circulación predominantes. Cuando surgen otros virus de la gripe A, las características de su actividad pueden variar.
19. Una vez que ha reaccionado, la base de prueba contiene grandes cantidades de diana amplificada (amplicón). **No desmonte la base de prueba ni el cartucho de transferencia**. En el caso de que una muestra sea positiva, esto podría causar la fuga del amplicón y posibles falsos positivos de la prueba con ID NOW Influenza A & B 2.
20. A una frecuencia baja, las muestras clínicas pueden contener inhibidores que pueden generar resultados no válidos. La tasa de no válidos puede variar de un centro a otro.
21. Debido a la alta sensibilidad de los ensayos procesados en el instrumento, la contaminación de la zona de trabajo con muestras positivas previas puede causar falsos positivos. Manipule las muestras según las prácticas convencionales de laboratorio. Limpie los instrumentos y las superficies circundantes de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el apartado de limpieza del Manual del usuario del instrumento. Si desea más información, consulte la sección 1.6, Mantenimiento y limpieza.
22. Con la prueba ID NOW Influenza A & B 2 no se deben utilizar muestras visiblemente sanguinolentas.
23. No toque la cabeza de los hisopos de control. Se puede producir una contaminación cruzada con los hisopos de control positivo debido a la elevada sensibilidad de los ensayos que se procesan en el instrumento.

ALMACENAMIENTO y ESTABILIDAD

Conserve el kit a 2-30 °C. El kit ID NOW Influenza A & B 2 es estable hasta la fecha de caducidad indicada en los envases exteriores y recipientes. Asegúrese de que los componentes alcanzan la temperatura ambiente antes de utilizarlos.

CONTROL de CALIDAD

ID NOW Influenza A & B 2 dispone de controles de procedimiento incorporados. El resultado del control de procedimiento se muestra en la pantalla y se guarda automáticamente en el instrumento con el resultado de cada prueba. Puede revisarse posteriormente mediante la opción Revisar memo. del instrumento.

Controles de procedimiento:

La prueba ID NOW Influenza A & B 2 contiene un control interno que ha sido diseñado para controlar la inhibición y amplificación de la muestra, así como el funcionamiento del reactivo del ensayo. En muestras positivas en las que la amplificación de la diana es fuerte, se ignora el control interno y la amplificación de la diana sirve como "control" para confirmar que la muestra clínica no era inhibidora y que el rendimiento del reactivo del ensayo era adecuado. A una frecuencia muy baja, las muestras clínicas pueden contener inhibidores que pueden generar resultados no válidos.

El mensaje "Contr. de proced. válido", que se muestra en la pantalla del instrumento, indica que los reactivos del ensayo han mantenido su integridad funcional y que la muestra no ha inhibido de forma significativa el rendimiento del ensayo.

Controles positivos y negativos externos:

En las buenas prácticas de laboratorio se recomienda el uso de controles positivos y negativos para garantizar que los reactivos de la prueba funcionan y que la prueba se realiza correctamente. Los kits ID NOW Influenza A & B 2 cuentan con un hisopo de control positivo e hisopos estériles que pueden utilizarse como hisopo de control negativo. Dichos hisopos monitorizarán el ensayo completo. Pruebe estos hisopos una vez con cada nuevo envío recibido y una vez para cada operador no cualificado. Se pueden analizar controles adicionales para cumplir las normativas de las leyes nacionales, regionales y locales, grupos de acreditación o los procedimientos de control de la calidad estándar de su laboratorio.

PROCEDIMIENTO de los HISOPOS de CONTROL

Deben probarse los controles positivos y negativos después de seguir las instrucciones para ejecutar la prueba de control de calidad en el ID NOW Instrument. El kit incluye un hisopo de control positivo. Utilice el hisopo estéril incluido en el kit como hisopo de control negativo. Consulte el procedimiento de la prueba del hisopo de control de la calidad o el Manual del usuario del instrumento si desea obtener más información.

Nota: *El ID NOW Instrument muestra los resultados de la prueba de CC como Superada o No superada. Si se indica que la prueba de CC positivo para la gripe A/B se ha superado, significa que se ha obtenido un resultado positivo tanto para la gripe A como para la gripe B.*

Si no se obtienen los resultados correctos con los controles, no realice pruebas de pacientes ni notifique los resultados del paciente. Póngase en contacto con el servicio técnico durante el horario comercial normal antes de analizar muestras de pacientes.

RECOGIDA y MANIPULACIÓN de MUESTRAS

Para lograr un rendimiento óptimo de la prueba, utilice muestras recién obtenidas. Si obtiene, manipula, conserva o transporta la muestra de forma incorrecta, los resultados pueden ser erróneos.

Hisopo nasal

Para lograr un rendimiento óptimo de la prueba, utilice los hisopos que se proporcionan con el kit de análisis. También puede utilizar hisopos de rayón o de espuma, hisopos HydraFlock® flocados (punta estándar), hisopos HydraFlock® flocados (punta pequeña), hisopos flocados de punta pequeña Copan o hisopos estándar flocados Copan para recoger las muestras nasales.

Los hisopos flocados de punta estándar Puritan PurFlock Ultra, los hisopos flocados de punta pequeña Puritan PurFlock Ultra y los hisopos de punta de rayón estándar Copan no son adecuados para su uso en este ensayo.

Para recoger una muestra con un hisopo nasal, introduzca cuidadosamente el hisopo en el orificio nasal que presente la secreción más visible o, en caso de no apreciarse secreción, el orificio nasal más congestionado. Girando suavemente, deslice el hisopo hasta encontrar resistencia a nivel de los cornetes nasales (menos de 25 mm en el orificio nasal). Gire el hisopo varias veces contra el tabique nasal y después retírelo lentamente del orificio nasal.

Hisopo nasofaríngeo

Para recoger las muestras nasofaríngeas, utilice hisopos nasofaríngeos flexibles de rayón, espuma, poliéster o flocados.

Para recoger una muestra con un hisopo nasofaríngeo, introduzca con cuidado el hisopo en la fosa nasal que presente el drenaje más visible o en la fosa nasal más congestionada si no hay drenaje visible. Haga pasar el hisopo directamente hacia atrás sin inclinar la punta del mismo hacia arriba o hacia abajo. El conducto nasal discurre paralelo al suelo, no paralelo al puente nasal. Aplicando una ligera rotación, introduzca el hisopo en los orificios nasales, en paralelo al paladar, y haga avanzar el hisopo hacia el interior de la nasofaringe, déjelo ahí unos segundos y, a continuación, hágalo girar con suavidad a medida que lo retira.

Para garantizar la correcta recogida, el hisopo debe llegar hasta una distancia a medio camino entre la nariz y la punta de la oreja. Esta distancia es aproximadamente la mitad de la longitud del hisopo. **NO FUERCE** el hisopo al introducirlo. El hisopo debe desplazarse con suavidad y con la mínima resistencia; si nota resistencia, retire un poco el hisopo sin sacarlo del todo de la fosa nasal. A continuación, eleve la parte posterior del hisopo y muévalo hacia delante, hacia el interior de la nasofaringe.

TRANSPORTE y CONSERVACIÓN de la MUESTRA

Los hisopos nasales o nasofaríngeos directos deben analizarse cuanto antes después de la obtención de la muestra. Si no es posible realizar la prueba inmediatamente, puede mantener un hisopo nasal o nasofaríngeo en su envase original a temperatura ambiente (15-30 °C) durante un máximo de dos (2) horas antes de la prueba. Si una muestra de hisopo nasal o nasofaríngeo directo va a guardarse durante más de dos (2) horas, debe refrigerarse a 2-8 °C y analizarse en un plazo de 24 horas a partir del momento de la obtención de la muestra.

Si fuera necesario transportar las muestras de hisopo nasal o nasofaríngeo, pueden utilizarse los medios de transporte que se indican a continuación, puesto que ya han sido probados y se consideran aceptables para su uso con ID NOW Influenza A & B 2. Realice una elución de la muestra en 0,5 a 3,0 ml de solución salina o medio de transporte viral girando el hisopo en el líquido durante 10 segundos, en el plazo de 1 hora tras la recogida de la muestra. Retire el hisopo y deséchelo. Si no es posible realizar el análisis inmediatamente, puede conservar las muestras eluidas del hisopo a temperatura ambiente (15-30 °C) hasta ocho (8) horas antes de realizar la prueba. Si la muestra eluida del hisopo va a guardarse durante más de ocho (8) horas, debe refrigerarse a 2-8 °C y analizarse en un plazo de 72 horas a partir del momento de recogida de la muestra. Si fuera necesario, transporte la muestra a 2-8 °C en un recipiente estanco.

Dé vueltas suavemente a las muestras eluidas del hisopo en el medio de transporte para que se mezclen antes de analizarlas.

Nota: *Se recomienda la mínima dilución posible de la muestra, ya que la dilución puede tener como resultado una menor sensibilidad de la prueba.*

Medios de transporte:
Medio de Amies
Medio de Eagle modificado por Dulbecco (D-MEM)
Solución salina equilibrada de Hank
Medios M4
Medios M4-RT
Medios M5
Medios M6
Solución salina tamponada con fosfato
Solución salina
Medio de Stuart
Medios de transporte universales
Starplex Multitrans

Se ha determinado que el caldo triptosa fosfato, el caldo de infusión de cerebro/corazón, el caldo de infusión de ternera y los medios de transporte E-MEM de Wako **NO** se pueden utilizar para esta prueba.

PROCEDIMIENTO del TEST

El ID NOW Instrument incluye una función de detección temprana que permite finalizar un ensayo multidiana tan pronto como se detecta un resultado positivo en una de las dianas. Consulte el Manual del usuario del ID NOW Instrument para obtener las instrucciones completas.

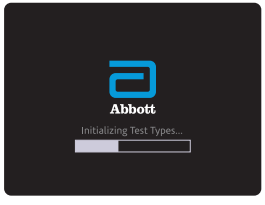
Antes de realizar una prueba con ID NOW Influenza A & B 2:

- Deje que todas las muestras alcancen la temperatura ambiente.
- Deje que todas las piezas de la prueba alcancen la temperatura ambiente.
- Compruebe que hay un gránulo de reactivo visible en la parte inferior de cada uno de los tubos de reacción antes de insertar la base de prueba en el ID NOW Instrument. No utilice la base de prueba si no puede ver gránulos en la parte inferior de cada tubo de reacción.

Ejecución de la prueba:

Paso 1

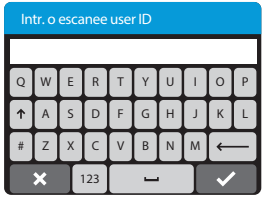
Encienda el ID NOW Instrument: pulse el botón de alimentación ⏻ situado a un lado del instrumento.



Nota: *Si la unidad está inactiva durante una hora, el instrumento cambiará al modo de ahorro de energía y la pantalla quedará en negro. Toque la pantalla para que la unidad vuelva a activar la pantalla.*

Introduzca el ID del usuario

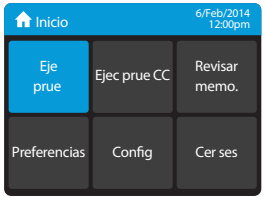
Pulse "✔" tras la introducción.



Ejecución de la prueba:

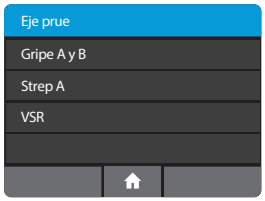
Toque “Eje prue”

De este modo comenzará el proceso de análisis.



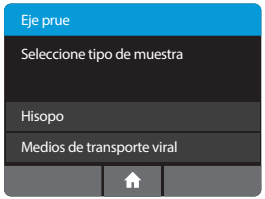
Toque “Prueba gripe A y B”

Comenzará una prueba de la gripe A y B.



Seleccione el tipo de muestra (si se le solicita)

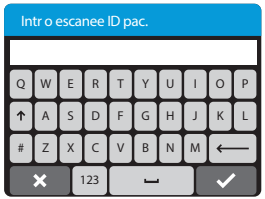
Si el administrador ya ha especificado el tipo de muestra, el instrumento avanzará automáticamente al siguiente paso.



Introduzca el ID del paciente mediante el teclado en pantalla o el escáner de códigos de barras.

Toque “✔”.

Verifique que el ID se haya introducido correctamente y, a continuación, toque “✔” para confirmarlo.



Ejecución de la prueba:

Paso 2

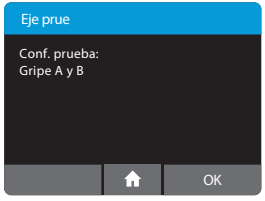




Abra la tapa e inserte la base de prueba naranja en el soporte para dicha base.

⚠ **Precaución: No ejerza demasiada fuerza. Una fuerza excesiva podría dañar el instrumento.**

Confirme que se muestra la prueba correcta en la pantalla.



Toque “OK” para continuar.

⚠ **Precaución: Una vez colocada la base de prueba en su soporte, el usuario dispone de 10 minutos para confirmar la prueba. Si la prueba no se confirma antes de 10 minutos, el instrumento se desconectará automáticamente y la base de prueba deberá retirarse y desecharse.**

Si se ha insertado una base de prueba incorrecta, retire y deseche dicha base. Cierre la tapa. El instrumento ejecutará a continuación una autocomprobación antes de pasar a la pantalla de inicio. Pulse “Eje prue” y reinicie la prueba con la base de prueba correcta.

Ejecución de la prueba:

Paso 3



⚠ **Precaución: Confirme que la bolsa de papel de aluminio del receptor de muestra indica Influenza A & B 2 (no otro ensayo ID NOW). Confirme que el precinto de papel de aluminio del receptor de muestra indica que es para el ensayo Influenza A & B. En caso negativo, saque el receptor de muestra y sustitúyalo por otro nuevo para ID NOW Influenza A & B 2.**

Inserte el receptor de muestra azul en el soporte de dicho receptor.

⚠ **Precaución: No ejerza demasiada fuerza. Una fuerza excesiva podría dañar el instrumento.**

⚠ **Precaución: Una vez colocado el receptor de muestra en su soporte, el usuario dispone de 10 minutos para iniciar la prueba (pasos 3 a 5). Si la prueba no se inicia antes de 10 minutos, el instrumento se desconectará automáticamente y todas las piezas de la prueba (base de prueba y receptor de muestra) deberán retirarse y desecharse. El instrumento pasará a la pantalla de inicio. Pulse "Eje prue" y reinicie la prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**



Espere a que el receptor de muestra se caliente. No retire el receptor de muestra del instrumento una vez haya comenzado el calentamiento.

⚠ **Precaución: NO RETIRE EL PRECINTO DE PAPEL DE ALUMINIO HASTA QUE ASÍ LO INDIQUE EL INSTRUMENTO.**

NO cierre la tapa ni inserte la muestra hasta que el instrumento se lo indique.

Ejecución de la prueba:

Paso 4

Procedimiento del test con hisopo nasal o nasofaríngeo directo

Cuando se solicite, retire el precinto de papel de aluminio y coloque el hisopo del paciente que desea analizar en el receptor de muestra.



Agite enérgicamente el hisopo en el líquido durante 10 segundos. Presione la cabeza del hisopo contra el lateral del receptor de muestra mientras lo agita. Esto ayuda a extraer la muestra del hisopo. Una vez retirado el hisopo, toque "OK" para continuar.



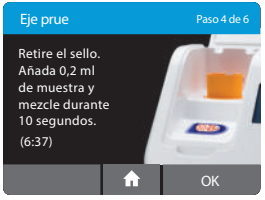
⚠ **Precaución: Para garantizar que el receptor de muestra permanece en el instrumento mientras se retira el precinto de papel de aluminio, ponga dos dedos a lo largo del borde externo del receptor de muestra para mantenerlo en su lugar. Si el receptor de muestra rebosa después del calentamiento, cancele la prueba pulsando el botón Inicio. Retire y deseche las piezas de la prueba (receptor de muestra y base de prueba) y limpie el instrumento. Pulse "Eje prue" para iniciar una nueva prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

Deseche el hisopo.
Vaya al paso 5a.

Ejecución de la prueba:

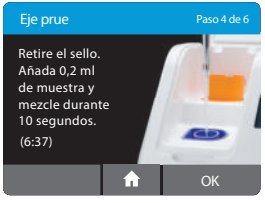
Procedimiento del test para hisopos nasales o nasofaríngeos eluidos en medios de transporte

Cuando se le solicite, quite el precinto de papel de aluminio y añada 0,2 ml de muestra al receptor de muestra usando las pipetas desechables suministradas en el kit.



Agite enérgicamente la muestra en el líquido durante 10 segundos. Utilice la punta de pipeta para agitar el líquido.

Una vez que la muestra esté mezclada y haya retirado la pipeta, toque inmediatamente “OK” para proceder. Prosiga y vaya al paso 5a.



⚠ **Precaución: Para garantizar que el receptor de muestra permanece en el instrumento mientras se retira el precinto de papel de aluminio, ponga dos dedos a lo largo del borde externo del receptor de muestra para mantenerlo en su lugar. Si el receptor de muestra rebosa después del calentamiento, cancele la prueba pulsando el botón Inicio. Retire y deseche las piezas de la prueba (receptor de muestra y base de prueba) y limpie el instrumento. Pulse “Eje prue” para iniciar una nueva prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

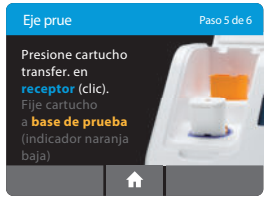
Ejecución de la prueba:

Paso 5a

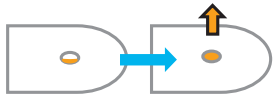
Presione el cartucho de transferencia blanco en el interior del receptor de muestra azul.

Presione hasta que oiga un clic.

Cuando el cartucho de transferencia está correctamente conectado al receptor de muestra, el indicador naranja del cartucho de transferencia se eleva. Si el indicador naranja no se eleva, continúe presionando sobre el receptor de muestra hasta que lo haga.



⚠ **Precaución: Debe observarse el indicador naranja muy atentamente. Si el indicador naranja no se eleva completamente, el cartucho de transferencia no podrá recoger suficiente muestra.**



Paso 5b

Levante y, a continuación, conecte el cartucho de transferencia a la base de prueba.

Cuando el cartucho de transferencia está correctamente acoplado a la base de prueba, el indicador naranja del cartucho de transferencia desciende. Si el indicador naranja no desciende, continúe presionando sobre la base de prueba hasta que lo haga.



⚠ **Precaución: Si el indicador naranja no desciende completamente, no se dispensará suficiente muestra. Esto puede generar resultados de prueba no válidos.**



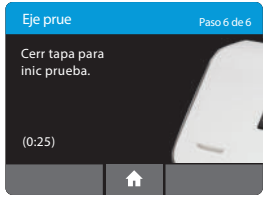
Ejecución de la prueba:

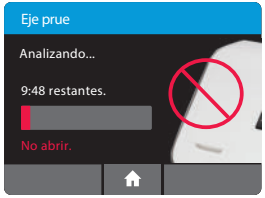
Paso 6

Cierre la tapa.

NO ABRA LA TAPA hasta que aparezca el mensaje **Prueba completada** en la pantalla.

Nota: *La prueba se cancelará si se abre la tapa.*

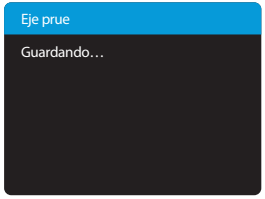




⚠ **Precaución: Esta pantalla se mostrará durante un máximo de 30 segundos una vez detectado el cartucho de transferencia. Si para entonces el instrumento no detecta que se ha cerrado la tapa, se desconectará automáticamente y todas las piezas de la prueba (receptor de muestra, base de prueba y cartucho de transferencia) deberán retirarse y desecharse. El instrumento pasará a la pantalla de inicio. Recoja una nueva muestra del paciente. Pulse "Eje prue" y reinicie la prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

⚠ **Precaución: NO ABRA LA TAPA. La prueba se cancelará y todas las piezas de la prueba (receptor de muestra, base de prueba y cartucho de transferencia) deberán retirarse y desecharse. No se notificará el resultado de la prueba ni se guardará en la memoria del instrumento.**

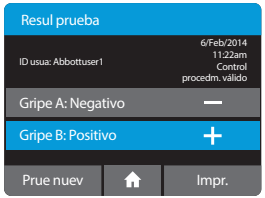
Cuando se completen la amplificación y detección, el instrumento guardará automáticamente los datos antes de pasar a la pantalla de resultados.



⚠ **Precaución: La prueba no se guardará hasta que se muestren los resultados completos. No abra la tapa hasta que se muestren los resultados.**

Ejecución de la prueba:

Si la prueba se completa con éxito, la pantalla **Resul prueba** mostrará un resultado positivo o negativo. Si se produce un error en la prueba, en la pantalla se leerá “Inváll.”. Consulte la sección Interpretación del resultado para obtener información sobre la interpretación de resultados.



Pulse “Impr.” para imprimir los resultados de la prueba. Pulse “Prue nuev” para realizar otra prueba. Pulse “Inicio” para volver a la pantalla de inicio.

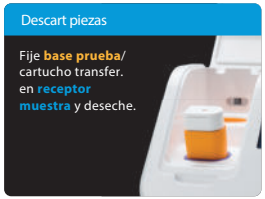
Después de imprimir, o si selecciona “Prue nuev” o “Inicio”, el instrumento le indicará que debe abrir la tapa y desechar las piezas de la prueba.



Retire las piezas de la prueba. Para ello, levante el cartucho de transferencia acoplado a la base de prueba y encájelo con un clic en el receptor de muestra, presionándolo hacia el interior del receptor.

⚠ **Precaución: No intente retirar el receptor de muestra de ningún otro modo, ya que existe el riesgo de que rebose la muestra del paciente.**

Todas las piezas de la prueba estarán conectadas y ahora se podrán retirar del instrumento y desechar de conformidad con las normas federales, estatales y locales.



⚠ **Precaución: NO desmonte el cartucho de transferencia ni la base de prueba antes de desecharlos.**

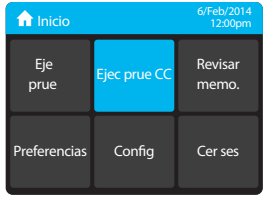
Cierre la tapa. El instrumento volverá a realizar una autocomprobación antes de mostrar la pantalla de inicio o la pantalla de introducción de ID del paciente, en función de la selección anterior.



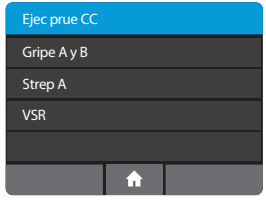
Procedimiento del test para hisopos de control de la calidad

Si se trata de una prueba de CC, seleccione “Ejec prue CC” en la pantalla de inicio y siga las instrucciones que se muestran. Consulte en el Manual del usuario del ID NOW Instrument el apartado dedicado a la realización de una prueba de CC para ver más detalles.

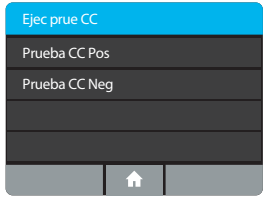
1 Toque “Ejec prue CC”



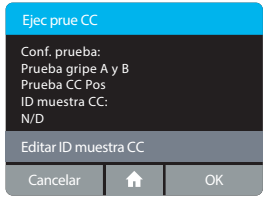
2 Toque “Gripe A y B”



3 Seleccione la prueba de CC que desea realizar



4 Confirme la prueba



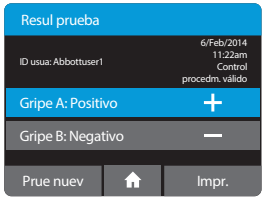
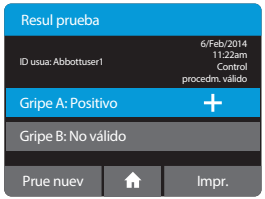
Pulse "OK" para confirmar que el tipo de prueba coincide con la muestra del CC que desea analizar y siga las indicaciones que aparecen en pantalla para realizar la prueba.

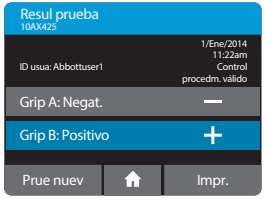
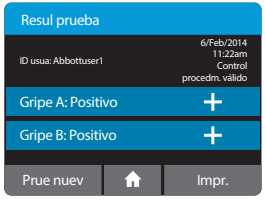
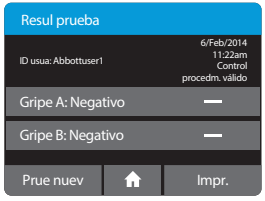
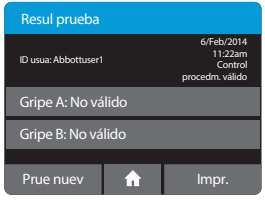
El usuario puede introducir un ID de la muestra de CC que se está analizando.

Nota: *La prueba de CC se realiza de la misma forma que la prueba de un paciente con hisopo nasal o nasofaríngeo directo. Consulte la sección* ***Ejecución de la prueba*** *anterior para obtener instrucciones detalladas para muestras de hisopo nasal o nasofaríngeo directo.*

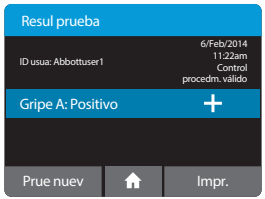
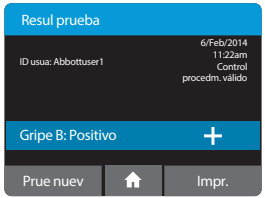
INTERPRETACIÓN del RESULTADO

Cuando la prueba se haya completado, los resultados se visualizarán claramente en la pantalla del instrumento. Se proporcionará un resultado individual tanto para la gripe A como para la gripe B.

Pantalla del instrumento	Interpretación de los resultados y medidas de seguimiento
	**ARN viral Gripe A Detectado; ARN viral Gripe B No detectado.** Este resultado no permite descartar coinfecciones por otros agentes patógenos ni identificar ningún subtipo específico del virus de la gripe A.
	**ARN viral Gripe A Detectado; no se puede determinar la presencia o ausencia de ARN viral Gripe B.** Este resultado no permite descartar coinfecciones por otros agentes patógenos ni identificar ningún subtipo específico del virus de la gripe A.

Pantalla del instrumento	Interpretación de los resultados y medidas de seguimiento
	**ARN viral Gripe B Detectado; ARN viral Gripe A No detectado.** Este resultado no permite descartar coinfecciones por otros agentes patógenos ni identificar ningún linaje específico del virus de la gripe B.
	**ARN viral Gripe A Detectado; ARN viral Gripe B Detectado.** Las infecciones dobles de gripe A y gripe B son poco frecuentes. Repita la prueba empleando una nueva muestra. Si el resultado sigue siendo doble positivo, repita la prueba con otro método antes de notificar los resultados. Este resultado no permite descartar coinfecciones por otros agentes patógenos ni identificar ningún linaje específico del virus de la gripe A o la gripe B.
	**ARN viral Gripe A No detectado; ARN viral Gripe B No detectado.**
	**No se puede determinar la presencia o ausencia de ARN viral Gripe A o Gripe B.** Repita el análisis de la muestra usando nuevos componentes de prueba. Si se obtienen repetidamente resultados no válidos para la gripe A y la gripe B, dichos resultados deberán confirmarse mediante otro método antes de comunicarlos.

Si el ID NOW Instrument se establece en “detección temprana”, se mostrará un resultado positivo para la gripe A o la gripe B inmediatamente después de su detección.

Pantalla del instrumento	Interpretación de los resultados y medidas de seguimiento
	**ARN viral Gripe A detectado.**
	**ARN viral Gripe B detectado.**

Si se obtiene un resultado no válido, se puede realizar una prueba adicional con el mismo receptor de muestra. Se deben seguir las instrucciones siguientes:

- Saque la base de prueba y el cartucho de transferencia conectados del instrumento y conecte la parte de la base de prueba a un receptor de muestra abierto y SIN USAR. La base de prueba y el cartucho de transferencia conectados DEBEN conectarse a un receptor de muestra antes de su eliminación. Puede usar el receptor de muestra de un paquete de cartucho de transferencia nuevo para este fin.
- Extraiga el receptor de muestra azul por separado y con cuidado del instrumento. El receptor de muestra debe mantenerse en posición vertical para evitar que se derrame el contenido líquido.
- Inicie una nueva prueba desde la pantalla de inicio. Siga las indicaciones de la pantalla; sin embargo, cuando se le pida que inserte el receptor de la muestra, utilice el receptor de la muestra anterior y NO vuelva a eluir el hisopo.

LIMITACIONES

- El rendimiento de ID NOW Influenza A & B 2 se ha evaluado exclusivamente mediante los procedimientos indicados en este prospecto. La modificación de estos procedimientos puede alterar el rendimiento de la prueba.
- El rendimiento de ID NOW Influenza A & B 2 depende de la carga de ARN viral y puede no estar correlacionado con el cultivo celular elaborado con la misma muestra. El ácido nucleico viral puede permanecer *in vivo* independientemente de la viabilidad del virus. La detección de dianas de analito no implica que los virus correspondientes sean infecciosos, ni que sean los agentes causantes de los síntomas clínicos.
- El rendimiento de ID NOW Influenza A & B 2 no ha sido establecido para la supervisión del tratamiento antiviral de la gripe.
- A pesar de que se ha observado que esta prueba ha detectado los virus A/H1N1 (pandémico anterior a 2009), A/H7N9 (detectado en China en 2013) y A/H3N2v, cultivados a partir de muestras respiratorias positivas de seres humanos, no se han establecido las características de rendimiento de este dispositivo con muestras clínicas que dan positivo para el virus A/H1N1 (pandémico anterior a 2009), A/H7N9 (detectado en China en 2013) ni A/H3N2v.
- Existe el riesgo de obtener falsos negativos debido a la presencia de variantes secuenciales de las dianas víricas del ensayo. Si el virus muta en las regiones diana, es posible que no se detecten los virus de la gripe A o B o que se detecten con menor eficiencia. Asimismo, si la variante secuencial se produce en la secuencia diana reconocida por la baliza molecular marcada fluorescentemente, es posible que se obtenga un resultado no válido en el ensayo.
- Los falsos negativos se pueden dar cuando una muestra se recoge, transporta o manipula de forma incorrecta. Los falsos negativos se pueden dar cuando en la muestra existen niveles de virus inadecuados.
- Los falsos negativos se pueden dar cuando en la muestra existen concentraciones de mucina del 1 % (p/v) o superiores.
- Los falsos negativos se pueden dar cuando el virus sincicial respiratorio está presente como organismo coinfectante.

- Los posibles efectos de interferencia de FluMist™ no se han evaluado. Las personas que hayan recibido la vacuna de la gripe administrada por vía nasal pueden dar positivo en las pruebas rápidas de diagnóstico de la gripe disponibles en el mercado, hasta tres días después de la vacunación.
- Esta prueba no está concebida para diferenciar los subtipos de la gripe A ni los linajes de la gripe B. Si se requiere una diferenciación de los subtipos y cepas específicos de la gripe, se necesitarán otras pruebas, previa consulta a los departamentos de salud pertinentes estatales o locales.
- Los resultados negativos no excluyen la infección por el virus de la gripe, y las decisiones sobre el tratamiento del paciente no deben basarse exclusivamente en estos resultados.
- Los valores predictivos positivos y negativos dependen en gran medida de la prevalencia. El rendimiento del ensayo se estableció durante la temporada de la gripe de 2016 a 2017. Los valores predictivos positivos y negativos pueden variar en función de la prevalencia y la población sometida a la prueba.
- Esta prueba no se ha evaluado para pacientes sin signos y síntomas de infección por la gripe.
- Se trata de una prueba cualitativa que no proporciona un valor cuantitativo del organismo detectado como presente.
- La reactividad cruzada con organismos de las vías respiratorias distintos a los que son objeto de la prueba del estudio de especificidad analítica puede ocasionar resultados erróneos.
- Este ensayo no ha sido evaluado para personas inmunodeficientes.
- Esta prueba no permite descartar enfermedades provocadas por otros agentes patógenos bacterianos o virales. Las regiones seleccionadas para la amplificación se mantienen dentro de todos los subtipos y cepas conocidos de la gripe A y la gripe B (si están disponibles los datos secuenciales de las bases de datos públicas). En las analíticas del laboratorio se ha observado que ID NOW Influenza A & B 2 es capaz de amplificar y detectar rápidamente los subtipos de la gripe H1N1 (pandémico anterior a 2009), H3N2 (variante) y H7N9 (detectado en China en 2013), pero no se ha establecido el rendimiento del ensayo para la detección de estos subtipos en el entorno clínico debido a la falta de muestras clínicas.

VALORES PREVISTOS

La prevalencia de la gripe varía de un año a otro, y normalmente los brotes se dan durante los meses de otoño e invierno.[2] El índice de positivos hallados en las pruebas de la gripe depende de muchos factores, incluidos el método de recogida de las muestras, el método de prueba empleado, la ubicación geográfica y la prevalencia de la enfermedad en localidades concretas. En los estudios clínicos prospectivos multicéntricos de ID NOW Influenza A & B 2 (descritos en la sección "Estudio clínico" más adelante), se consideraron evaluables un total de 1070 muestras de hisopos nasales o nasofaríngeos directos y 1057 muestras de hisopos nasales o nasofaríngeos eluidos en medios de transporte viral. El número y porcentaje de casos positivos de gripe A y gripe B por cada grupo de edad definido, según lo determinó el ensayo ID NOW Influenza A & B 2, se presentan en las dos tablas siguientes:

Positivos para la gripe A mediante el ensayo ID NOW™ Influenza A & B 2 por grupo de edad

Grupo de edad	Número de muestras de hisopos directos	Número de positivos para la gripe A	Índice de positivos para la gripe A	Número de muestras de medios de transporte viral	Número de positivos para la gripe A	Índice de positivos para la gripe A
<1 año	60	6	10,0 %	59	7	11,9 %
1 a 5 años	184	47	25,5 %	177	45	25,4 %
6 a 10 años	115	41	35,7 %	116	40	34,5 %
11 a 15 años	87	30	34,5 %	86	28	32,6 %
16 a 21 años	86	30	34,9 %	84	28	33,3 %
>21 a 60 años	460	108	23,5 %	457	91	19,9 %
>60 años	78	19	24,4 %	78	19	24,4 %
Total	**1070**	**281**	**26,3 %**	**1057**	**258**	**24,4 %**

Positivos para la gripe B mediante el ensayo ID NOW™ Influenza A & B 2 por grupo de edad

Grupo de edad	Número de muestras de hisopos directos	Número de positivos para la gripe B	Índice de positivos para la gripe B	Número de muestras de medios de transporte viral	Número de positivos para la gripe B	Índice de positivos para la gripe B
<1 año	60	4	6,7 %	59	4	6,8 %
1 a 5 años	184	28	15,2 %	177	25	14,1 %
6 a 10 años	115	27	23,5 %	116	28	24,1 %
11 a 15 años	87	20	23,0 %	86	18	20,9 %
16 a 21 años	86	10	11,6 %	84	11	13,1 %
>21 a 60 años	460	29	6,3 %	457	26	5,7 %
>60 años	78	7	9,0 %	78	7	9,0 %
Total	**1070**	**125**	**11,7 %**	**1057**	**119**	**11,3 %**

CARACTERÍSTICAS de RENDIMIENTO

Estudio clínico:

Las características de rendimiento clínico de la prueba ID NOW Influenza A & B 2 se evaluaron en un estudio prospectivo multicéntrico realizado durante la temporada de enfermedades respiratorias 2016-2017 en los EE. UU. Participaron en el estudio un total de diez centros de investigación de todo el país.

En el estudio, se obtuvieron dos hisopos nasales o nasofaríngeos de una de las fosas nasales de cada sujeto mediante métodos de recogida estándar. En todos los centros, se analizó directamente un hisopo nasal o nasofaríngeo en ID NOW Influenza A & B 2, de acuerdo con el procedimiento del test para **hisopo nasal o hisopo nasofaríngeo directo**. El otro hisopo nasal o nasofaríngeo se eluyó en 3 ml de medio de transporte viral (MTV). Las muestras se analizaron y procesaron mediante el ensayo ID NOW Influenza A & B 2 según el procedimiento del test para **hisopos nasales o nasofaríngeos eluidos en medios de transporte viral**. En este estudio, como método de comparación, se utilizó una prueba de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR en tiempo real) aprobada por la FDA. Todas las muestras discrepantes se analizaron en un ensayo de PCR en tiempo real diferente aprobado por la FDA para confirmar el estado de la gripe.

Las pruebas de control externas, mediante los controles positivos y negativos de ID NOW Influenza A & B, se llevaron a cabo antes de analizar las muestras cada día y en cada ID NOW Instrument en todos los centros del estudio.

Se incluyeron en este estudio un total de 1110 muestras de hisopos nasales o nasofaríngeos. De ellas, 36 muestras de hisopos nasales o nasofaríngeos no cumplían los criterios de elegibilidad. Se analizaron un total de 1074 muestras con ID NOW Influenza A & B 2. En la tabla siguiente se presenta la distribución de las muestras evaluables por edad y sexo de los pacientes.

Distribución por edad y sexo

Grupo de edad (años)	Mujeres	Hombres
<1	30	30
1 a 5	80	104
6 a 10	57	61
11 a 15	39	48
16 a 21	48	39
>21 a 60	299	161
>60	44	34
Total	**597**	**477**

De las 1074 muestras, ID NOW Influenza A & B 2 generó resultados no válidos con 4 muestras de hisopos directos tras repetir las pruebas según las instrucciones del producto, con un resultado total de 1070 muestras para el análisis de rendimiento de hisopos directos. ID NOW Influenza A & B 2 generó resultados no válidos con 11 muestras de medios de transporte viral tras repetir las pruebas según las instrucciones del producto y 6 muestras adicionales no cumplieron los criterios de elegibilidad, con un resultado total de 1057 muestras para el análisis de rendimiento de medios de transporte viral.

El rendimiento de ID NOW Influenza A & B 2 comparado con el método de referencia PCR en tiempo real se muestra en las siguientes tablas.

Hisopo nasal o nasofaríngeo directo: rendimiento obtenido para la gripe A con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia

ID NOW™ Influenza A & B 2: gripe A	**Método de referencia**		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	260	21[a]	281
Negativo	10[b]	779	789
Total	**270**	**800**	**1070**
Sensibilidad: 260/270 96,3 % (IC 95 %: 93,3 %-98,2 %)			
Especificidad: 779/800 97,4 % (IC 95 %: 96,0 %-98,4 %)			

[a] *Se detectó ácido nucleico de la gripe A en 6/21 muestras falsamente positivas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

[b] *No se detectó ácido nucleico de la gripe A en 4/10 muestras falsamente negativas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

Hisopo nasal o nasofaríngeo directo: rendimiento obtenido para la gripe B con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia

ID NOW™ Influenza A & B 2: gripe B	**Método de referencia**		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	97	28[a]	125
Negativo	0	945	945
Total	**97**	**973**	**1070**
Sensibilidad: 97/97 100 % (IC 95 %: 96,3 %-100 %)			
Especificidad: 945/973 97,1 % (IC 95 %: 95,9 %-98,1 %)			

[a] *Se detectó ácido nucleico de la gripe B en 21/28 muestras falsamente positivas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

Hisopo nasal o nasofaríngeo eluido en medio de transporte viral: rendimiento obtenido para la gripe A con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia

ID NOW™ Influenza A & B 2: gripe A	Método de referencia		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	246	12[a]	258
Negativo	19[b]	780	799
Total	**265**	**792**	**1057**
Sensibilidad: 246/265 92,8 % (IC 95 %: 89,0 %-95,6 %)			
Especificidad: 780/792 98,5 % (IC 95 %: 97,4 %-99,2 %)			

[a] *Se detectó ácido nucleico de la gripe A en 5/12 muestras falsamente positivas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

[b] *No se detectó ácido nucleico de la gripe A en 6/19 muestras falsamente negativas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

Hisopo nasal o nasofaríngeo eluido en medio de transporte viral: rendimiento obtenido para la gripe B con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia

ID NOW™ Influenza A & B 2: gripe B	Método de referencia		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	97	22[a]	119
Negativo	0	938	938
Total	**97**	**960**	**1057**
Sensibilidad: 97/97 100 % (IC 95 %: 96,3 %-100 %)			
Especificidad: 938/960 97,7 % (IC 95 %: 96,6 %- 98,6 %)			

[a] *Se detectó ácido nucleico de la gripe B en 18/22 muestras falsamente positivas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

Durante el estudio clínico prospectivo, la tasa inicial de resultados no válidos para las muestras de hisopo nasal o nasofaríngeo directo (antes de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto) fue del 0,8 % (9/1074) (IC del 95 %: 0,4 % a 1,6 %). Después de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto, la tasa de no válidos fue del 0,4 % (4/1074) (IC del 95 %: 0,1 % a 1,0 %).

La tasa de no válidos inicial para los hisopos eluidos en medios de transporte viral fue del 2,2 % (24/1074) (IC del 95 %: 1,5 % a 3,2 %). Después de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto, la tasa de no válidos fue del 1,0 % (11/1074)
(IC del 95 %: 0,6 % a 1,8 %).

El rendimiento de ID NOW Influenza A & B 2 para la detección de la gripe A y la gripe B frente al método de referencia de este estudio se presenta en la tabla siguiente estratificado por edad de los pacientes.

Hisopo nasal o nasofaríngeo directo: rendimiento obtenido para la gripe A y para la gripe B con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia: estratificado por edad de los pacientes

	≤ 5 años de edad (n = 244)		**6 - ≤ 21 años de edad (n = 288)**		**≥ 22 años de edad (n = 538)**	
Tipo de gripe	**Sensibilidad IC del 95 %**	**Especificidad IC del 95 %**	**Sensibilidad IC del 95 %**	**Especificidad IC del 95 %**	**Sensibilidad IC del 95 %**	**Especificidad IC del 95 %**
Gripe A	100 % (52/52) 93,2 % - 100 %	99,5 % (191/192) 97,1 % - 100 %	95,8 % (91/95) 89,6 % - 98,8 %	94,8 % (183/193) 90,7 % - 97,5 %	95,1 % (117/123) 89,7 % - 98,2 %	97,6 % (405/415) 95,6 % - 98,8 %
Gripe B	100 % (25/25) 86,3 % - 100 %	96,8 % (212/219) 93,5 % - 98,7 %	100 % (48/48) 92,6 % - 100 %	96,3 % (231/240) 93,0 % - 98,3 %	100 % (24/24) 85,8 % - 100 %	97,7 % (502/514) 96,0 % - 98,8 %

Hisopos nasales o nasofaríngeos eluidos en medios de transporte viral: rendimiento obtenido para la gripe A y la gripe B con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia: estratificado por edad de los pacientes

	≤ 5 años de edad (n = 236)		6 - ≤ 21 años de edad (n = 286)		≥ 22 años de edad (n = 535)	
Tipo de gripe	**Sensibilidad IC del 95 %**	**Especificidad IC del 95 %**	**Sensibilidad IC del 95 %**	**Especificidad IC del 95 %**	**Sensibilidad IC del 95 %**	**Especificidad IC del 95 %**
Gripe A	100 % (51/51) 93,0 % - 100 %	99,5 % (184/185) 97,0 % - 99,9 %	96,8 % (90/93) 90,9 % - 99,3 %	96,9 % (187/193) 93,4 % - 98,9 %	86,8 % (105/121) 79,4 % - 92,2 %	98,8 % (409/414) 97,2 % - 99,6 %
Gripe B	100 % (24/24) 85,8 % - 100 %	97,6 % (207/212) 94,6 % - 99,2 %	100 % (49/49) 92,7 % - 100 %	96,6 % (229/237) 93,5 % - 98,5 %	100 % (24/24) 85,8 % - 100 %	98,2 % (502/511) 96,7 % - 99,2 %

ESTUDIOS ANALÍTICOS:

Operadores de tres centros realizaron un estudio de reproducibilidad de ID NOW Influenza A & B 2 utilizando paneles de muestras ciegas que contenían muestras virales de la gripe A y B negativas, positivas bajas (en el límite de detección) y positivas moderadas (sobre el límite de detección).

Las diluciones de los virus se prepararon empleando una cepa de la gripe A y una cepa de la gripe B en una matriz de hisopo nasal natural. Las concentraciones de las reservas virales (en $TCID_{50}$/ml) se determinaron mediante un método virológico estándar antes de la inactivación por parte de los proveedores. La concentración de cada dilución (en equivalentes genómicos/ml) también se evaluó mediante ensayos PCR de laboratorio cuantitativos en tiempo real de la gripe A y la gripe B desarrollados y validados.

Se prepararon muestras nasales de hisopos artificiales recubriendo el hisopo con 10 microlitros de la dilución de cada uno de los virus. Las muestras de hisopos artificiales se analizaron sin volver a eluirlas en medios de transporte viral según las instrucciones del producto.

Los participantes analizaron cada muestra varias veces en cinco días distintos. El porcentaje de coincidencia con los resultados previstos para las muestras positivas moderadas y positivas bajas de la gripe A fue del 100 % (90/90). Los porcentajes de coincidencia con el resultado previsto para las muestras positivas moderadas y positivas bajas de la gripe B fueron del 100 % (89/89) y del 98,9 % (89/90), respectivamente. Todas las muestras ciertamente negativas (89) generaron resultados negativos en las pruebas. No se observaron diferencias significativas en una misma secuencia (réplicas analizadas por un operador), entre secuencias (cinco días diferentes), entre centros (tres centros) o entre operadores (nueve operadores).

En la tabla siguiente se presentan los resultados cualitativos del estudio de reproducibilidad de un centro a otro (coincidencia con los resultados previstos):

Resultados cualitativos del estudio de reproducibilidad de un centro a otro

Categoría de la muestra	CENTRO						Porcentaje de coincidencia general e IC del 95 %	
	Centro 1		Centro 2		Centro 3			
	Porcentaje de coincidencia	Recuento	Porcentaje de coincidencia	Recuento	Porcentaje de coincidencia	Recuento		
LP gripe A	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	29/29	100 % (89/89)	(95,9 %, 100 %)
MP gripe A	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 % (90/90)	(95,9 %, 100 %)
LP gripe B	100 %	30/30	96,7 %	29/30	100 %	30/30	98,9 % (89/90)	(94,0 %, 99,8 %)
MP gripe B	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	29/29	100 % (89/89)	(95,9 %, 100,0 %)
TN	100 %	30/30	100 %	29/29	100 %	30/30	100 % (89/89)	(95,9 %, 100 %)

[1] *El porcentaje de coincidencia se correlaciona con el porcentaje de resultados negativos.*

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección (LOD) de ID NOW Influenza A & B 2 en una matriz de hisopo nasal natural se determinó al evaluar distintas concentraciones de 2 cepas del virus de la gripe A y 2 cepas del virus de la gripe B en ID NOW Influenza A & B 2. Se incluyeron en este estudio dos cepas del virus de la gripe A que representaban cada uno de los dos subtipos comunes que circulaban actualmente o recientemente de la gripe A (es decir, A/H3N2 estacional y A/H1N1 pandémico [pdm]) y dos cepas del virus de la gripe B que representaban cada uno de los dos linajes genéticos de la gripe B (es decir, Victoria y Yamagata).

Las muestras de hisopo nasal natural supuestamente negativas se eluyeron en MTU. Las eluciones de los hisopos se combinaron y mezclaron bien para crear una reserva de matriz clínica para usarla como diluyente. Cada cepa del virus de la gripe se diluyó en su reserva de matriz de hisopo nasal natural para generar diluciones del virus para las pruebas. Las cepas de virus suministradas por el proveedor fueron diluidas de nuevo y las concentraciones (en $TCID_{50}$/ml) se determinaron mediante un método virológico estándar. La concentración de cada dilución (en equivalentes genómicos/µl) también se evaluó mediante ensayos PCR de laboratorio cuantitativos en tiempo real de la gripe A y la gripe B desarrollados y validados.

Se prepararon muestras de hisopos nasales artificiales recubriendo el hisopo con 10 microlitros de la dilución de cada uno de los virus. Las muestras de hisopos artificiales se analizaron sin volver a eluirlas en medios de transporte de virus según el procedimiento de la prueba de los hisopos nasales o nasofaríngeos directos.

Se llevó a cabo otro estudio de LOD con muestras de hisopos artificiales eluidas en MTV que se analizaron según el procedimiento de análisis de los hisopos nasales o nasofaríngeos eluidos en medios de transporte viral. El LOD de cada cepa de la gripe analizada se determinó mediante el análisis Probit como la menor concentración viral detectada ≥ 95 % del tiempo (es decir, la concentración a la que al menos 19 de los 20 replicados dieron positivo).

En las tablas siguientes se presentan los límites de detección (LOD) confirmados de la matriz de hisopo nasal natural, tanto directo como eluido en MTV para cada cepa de la gripe analizada:

Resultados del estudio de límite de detección (LOD): matriz de hisopo nasal natural (pruebas con hisopos directos)

Cepa de la gripe	Subtipo de la gripe A o linaje genético de la gripe B	LOD ($TCID_{50}$/ml)	LOD ($TCID_{50}$/hisopo)*	LOD (equivalentes genómicos/ml)	LOD (equivalentes genómicos/hisopo)*
A/Texas/50/2012	A/H3N2	$1{,}00 \times 10^{-1}$	$1{,}00 \times 10^{-3}$	$1{,}06 \times 10^{4}$	$1{,}06 \times 10^{2}$
A/California/7/2009	A/2009 H1N1 pdm	$2{,}00 \times 10^{0}$	$2{,}00 \times 10^{-2}$	$1{,}60 \times 10^{4}$	$1{,}60 \times 10^{2}$
B/Brisbane/60/2008	Linaje Victoria	$5{,}20 \times 10^{1}$	$5{,}20 \times 10^{-1}$	$6{,}60 \times 10^{3}$	$6{,}60 \times 10^{1}$
B/Wisconsin/1/2010	Linaje Yamagata	$5{,}01 \times 10^{2}$	$5{,}01 \times 10^{0}$	$1{,}11 \times 10^{4}$	$1{,}11 \times 10^{2}$

**Nota:* *Se recubrió un hisopo con 10 µl de cada dilución de virus*

Resultados del estudio de límite de detección (LOD): matriz de hisopo nasal natural (pruebas con hisopos eluidos en MTV)

Cepa de la gripe	Subtipo de la gripe A o linaje genético de la gripe B	LOD ($TCID_{50}$/ml)	LOD ($TCID_{50}$/hisopo)*	LOD (equivalentes genómicos/ml)	LOD (equivalentes genómicos/hisopo)*
A/Texas/50/2012	A/H3N2	$1{,}00 \times 10^{0}$	$1{,}00 \times 10^{-2}$	$2{,}10 \times 10^{5}$	$2{,}10 \times 10^{3}$
A/California/7/2009	A/2009 H1N1 pdm	$5{,}00 \times 10^{1}$	$5{,}00 \times 10^{-1}$	$3{,}83 \times 10^{5}$	$3{,}83 \times 10^{3}$
B/Brisbane/60/2008	Linaje Victoria	$1{,}20 \times 10^{3}$	$1{,}20 \times 10^{1}$	$1{,}51 \times 10^{5}$	$1{,}51 \times 10^{3}$
B/Wisconsin/1/2010	Linaje Yamagata	$9{,}66 \times 10^{3}$	$9{,}66 \times 10^{1}$	$2{,}14 \times 10^{5}$	$2{,}14 \times 10^{3}$

**Nota:* *Se recubrió un hisopo con 10 µl de cada dilución de virus; cada hisopo artificial se diluyó después en 3 ml de MTU*

Reactividad analítica (inclusividad)

Se llevó a cabo un estudio de reactividad analítica (inclusividad) para determinar si el ensayo ID NOW Influenza A & B 2 es capaz de detectar una variedad de cepas de la gripe A y la gripe B que representa la diversidad temporal y geográfica.

Las reservas de cepas de la gripe A y la gripe B suministradas por el proveedor se diluyeron en la matriz de hisopo nasal natural para generar diluciones del virus para las pruebas. La concentración (en $TCID_{50}$/ml) para cada cepa se determinó mediante un método virológico estándar. La concentración de cada dilución (en equivalentes genómicos/ml) también se evaluó mediante ensayos PCR de laboratorio cuantitativos en tiempo real de la gripe A y la gripe B desarrollados y validados.

Se prepararon muestras de hisopos artificiales recubriendo cada hisopo con 10 microlitros de dilución de virus. Las muestras de hisopos artificiales se analizaron sin volver a eluirlas en medios de transporte de virus según el procedimiento de la prueba de los hisopos nasales o nasofaríngeos directos.

La concentración de la dilución inicial elegida para las pruebas de este estudio fue más elevada que los LOD establecidos en el estudio de límite de detección. Inicialmente, cada dilución inicial por cepa de virus se analizó con triplicados. Si la prueba inicial generó al menos un resultado negativo, se analizó una concentración más elevada y, a continuación, se diluyó el doble hasta que se obtuvieron resultados negativos. El nivel de concentración se consideró "reactivo/positivo" en este estudio si los tres replicados generaron un resultado positivo para el virus de la gripe previsto.

El ensayo ID NOW Influenza A & B 2 detectó todas las cepas analizadas a las concentraciones indicadas en la tabla siguiente:

Resultados del estudio de reactividad analítica

Cepa de la gripe	Subtipo de la gripe A o linaje genético de la gripe B	Concentración de la prueba (en $TCID_{50}$ o equivalentes genómicos)			
		$TCID_{50}$/ml	$TCID_{50}$/hisopo*	Equivalentes genómicos/ml	Equivalentes genómicos/hisopo*
A/New Caledonia/20/1999	A/H1N1	$2{,}74 \times 10^{4}$	$2{,}74 \times 10^{2}$	$3{,}00 \times 10^{4}$	$3{,}00 \times 10^{2}$
A/New Jersey/8/76	A/H1N1	$8{,}62 \times 10^{-1}$	$8{,}62 \times 10^{-3}$	$3{,}00 \times 10^{4}$	$3{,}00 \times 10^{2}$
A/Brisbane/59/2007	A/H1N1	$2{,}44 \times 10^{0}$	$2{,}44 \times 10^{-2}$	$3{,}00 \times 10^{4}$	$3{,}00 \times 10^{2}$
A/WSN/33	A/H1N1	$2{,}78 \times 10^{2}$	$2{,}78 \times 10^{0}$	$3{,}00 \times 10^{4}$	$3{,}00 \times 10^{2}$
A/California/4/2009	A/H1N1	$1{,}26 \times 10^{1}$	$1{,}26 \times 10^{-1}$	$3{,}00 \times 10^{4}$	$3{,}00 \times 10^{2}$
A/Maryland/04/2011	A/H1N1	$1{,}55 \times 10^{3}$	$1{,}55 \times 10^{1}$	$3{,}00 \times 10^{4}$	$3{,}00 \times 10^{2}$
A/New York/18/2009	A/H1N1	$9{,}08 \times 10^{0}$	$9{,}08 \times 10^{-2}$	$3{,}00 \times 10^{4}$	$3{,}00 \times 10^{2}$

Cepa de la gripe	Subtipo de la gripe A o linaje genético de la gripe B	Concentración de la prueba (en $TCID_{50}$ o equivalentes genómicos)			
		$TCID_{50}$/ml	$TCID_{50}$/hisopo*	Equivalentes genómicos/ml	Equivalentes genómicos/hisopo*
A/South Carolina/2/2010	A/H1N1	$3,47 \times 10^{1}$	$3,47 \times 10^{-1}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Port Chalmers/1/73	A/H3N2	$2,02 \times 10^{3}$	$2,02 \times 10^{1}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Hong Kong/8/68	A/H3N2	$2,16 \times 10^{1}$	$2,16 \times 10^{-1}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Aichi/2/68	A/H3N2	$3,58 \times 10^{0}$	$3,58 \times 10^{-2}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Perth/16/2009	A/H3N2	$6,12 \times 10^{2}$	$6,12 \times 10^{0}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Victoria/3/75	A/H3N2	$9,61 \times 10^{-1}$	$9,61 \times 10^{-3}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Wisconsin/67/2005	A/H3N2	$1,60 \times 10^{3}$	$1,60 \times 10^{1}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Brisbane/10/2007	A/H3N2	$5,48 \times 10^{1}$	$5,48 \times 10^{-1}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Victoria/361/2011	A/H3N2	$6,41 \times 10^{0}$	$6,41 \times 10^{-2}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Indiana/10/2011	A/H3N2v	$7,02 \times 10^{3}$	$7,02 \times 10^{1}$	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Sichuan/26221/2014 (inactivado)	A/H5N6	N/D	N/D	$3,00 \times 10^{4}$	$3,00 \times 10^{2}$
A/Anhui/1/2013 (inactivado)	A/H7N9	N/D	N/D	$6,70 \times 10^{4}$	$6,70 \times 10^{2}$
B/Lee/40	Linaje Victoria	$1,64 \times 10^{0}$	$1,64 \times 10^{-2}$	$2,25 \times 10^{4}$	$2,25 \times 10^{2}$
B/Victoria/504/2000	Linaje Victoria	$1,45 \times 10^{2}$	$1,45 \times 10^{0}$	$2,25 \times 10^{4}$	$2,25 \times 10^{2}$
B/Nevada/03/2011	Linaje Victoria	$3,66 \times 10^{2}$	$3,66 \times 10^{0}$	$2,25 \times 10^{4}$	$2,25 \times 10^{2}$
B/Montana/05/2012	Linaje Victoria	$2,21 \times 10^{2}$	$2,21 \times 10^{0}$	$2,25 \times 10^{4}$	$2,25 \times 10^{2}$
B/Maryland/1/59	Linaje Yamagata	$8,42 \times 10^{2}$	$8,42 \times 10^{0}$	$2,25 \times 10^{4}$	$2,25 \times 10^{2}$
B/Russia/69	Linaje Yamagata	$9,38 \times 10^{2}$	$9,38 \times 10^{0}$	$7,23 \times 10^{5}$	$7,23 \times 10^{3}$
B/Bangladesh/3333/2007	Linaje Yamagata	$4,64 \times 10^{2}$	$4,64 \times 10^{0}$	$2,33 \times 10^{4}$	$2,33 \times 10^{2}$
B/Massachusetts/2/2012	Linaje Yamagata	$4,30 \times 10^{2}$	$4,30 \times 10^{0}$	$2,25 \times 10^{4}$	$2,25 \times 10^{2}$
B/Malaysia/2506/2004	Linaje Yamagata	$3,25 \times 10^{3}$	$3,25 \times 10^{1}$	$2,25 \times 10^{4}$	$2,25 \times 10^{2}$
B/Texas/06/2011	Linaje Yamagata	$5,33 \times 10^{2}$	$5,33 \times 10^{0}$	$2,25 \times 10^{4}$	$2,25 \times 10^{2}$

*__Nota:__ *Se recubrió un hisopo con 10 µl de cada dilución de virus*

Especificidad analítica (reactividad cruzada)

Para determinar la especificidad analítica de ID NOW Influenza A & B 2, se analizaron 36 microorganismos comensales patógenos (18 bacterias, 17 virus y 1 hongo) que podrían estar presentes en la cavidad nasal o en la nasofaringe. Todos los microorganismos siguientes dieron negativo en las pruebas a concentraciones que oscilaron entre 10^3 y 10^{10} células/ml o UFC/ml (bacterias), entre 10^4 y 10^8 $TCID_{50}$/ml (virus) y 10^8 células/ml (hongo).

Bacterias	Virus	Hongo
Bordetella pertussis	Adenovirus tipo 1	*Candida albicans*
Corynebacterium diphtheriae	Adenovirus tipo 7	
*Escherichia coli**	Coronavirus humano OC43	
Haemophilius influenzae	Echovirus 7	
Klebsiella pneumoniae	Coronavirus humano 229E	
Lactobacillus plantarum	Enterovirus 70	
Legionella pneumophila	Coxsackievirus B4	
*Moraxella/Branhamella catarrhalis**	Citomegalovirus humano (CMV) (herpes V)	
Mycobacterium tuberculosis	Metapneumovirus humano	
Mycoplasma pneumoniae	Rinovirus 1A	
Neisseria meningitidis	Sarampión (Edmonston)	
*Proteus vulgaris**	Paperas (Enders)	
Pseudomonas aeruginosa	Parainfluenza 1	
Staphylococcus aureus	Parainfluenza 2	
Staphylococcus epidermidis	Parainfluenza 3	
Streptococcus pneumoniae	Virus sincicial respiratorio, tipo B	
Streptococcus salivarius	Virus de Epstein Barr	
Streptococcus pyogenes		

** Se observó cierta reactividad cruzada en E. coli a concentraciones superiores a 2,20 x 10^9, en Moraxella catarrhalis a concentraciones superiores a 2,40 x 10^8 y en Proteus vulgaris a concentraciones superiores a 1,50 x 10^8.*

Además, se realizó un análisis *in silico* para determinar si hay alguna superposición significativa entre la secuencia del ácido nucleico diana de ID NOW Influenza A & B 2 y los genomas de los siguientes microorganismos de las vías respiratorias altas. Ninguno de los organismos conservó una secuencia genómica que fuera significativamente similar a las secuencias diana de ID NOW Influenza A & B 2.

Bacterias	**Virus**
Bordetella bronchiseptica	Adenovirus 2
Chlamydia pneumoniae	Adenovirus 3
Chlamydia trachomatis	Adenovirus 4
Neisseria gonorrhoae	Adenovirus 5
Neisseria mucosa	Adenovirus 11
Proteus mirabilis	Adenovirus 14
	Adenovirus 31
	Coronavirus NL63
	Coxsackievirus B35
	Echovirus 6
	Echovirus 9
	Echovirus 11
	Enterovirus 71

Sustancias que producen interferencias

Las siguientes sustancias, presentes de forma natural en las muestras respiratorias o que pueden introducirse de forma artificial en la cavidad nasal o en la nasofaringe, se evaluaron con ID NOW Influenza A & B 2 a las concentraciones recogidas en la lista siguiente y se halló que no afectaban al rendimiento de la prueba.

Sustancia	Concentración
Mucina	0,5 % w/v
Sangre completa	1 % v/v
Espray nasal NeoSynephrine	20 % v/v
Espray nasal Afrin Original	20 % v/v
Espray nasal Ocean Saline	20 % v/v
Chloroseptic Max	20 % w/v
Zicam	20 % v/v
Beclometasona	0,068 mg/ml
Budesonida	0,051 mg/ml
Dexametasona	0,48 mg/ml
Flunisolida	0,04 mg/ml
Fluticasona	0,04 mg/ml
Mometasona	0,04 mg/ml
Mupirocina	4,3 mg/ml
Tobriamicina	1,44 mg/ml
Triamcinolona	0,04 mg/ml
Zanamivir (Relenza)	0,284 mg/ml

Inhibición por otros microorganismos

Se evaluó el rendimiento de la prueba ID NOW Influenza A & B 2 en presencia de agentes patógenos respiratorios no gripales. Las reservas de cepas de la gripe A y B suministradas por el proveedor se diluyeron en MTU hasta aproximadamente 3 veces el límite de detección. Se prepararon muestras de hisopos artificiales positivos para la gripe A y B recubriendo cada hisopo con 10 microlitros de dilución del virus. El siguiente panel de virus no gripales se analizó a la concentración indicada en la tabla siguiente y se halló que no afectaban al rendimiento de la prueba.

Panel de virus	Concentración
Adenovirus tipo 1	$2{,}95 \times 10^7$ $TCID_{50}$/ml
Rinovirus tipo 1A	$1{,}58 \times 10^8$ $TCID_{50}$/ml
Virus respiratorio sincicial, tipo B, cepa 18537	$3{,}00 \times 10^3$ (UFP/ml)

Inhibición por elevados niveles de gripe A y B

Se evaluó el rendimiento de la prueba ID NOW Influenza A & B 2 en presencia de elevados niveles de gripe A y B. Las reservas de cepas de la gripe A y B suministradas por el proveedor se diluyeron en MTU hasta aproximadamente 3 veces el límite de detección. Se prepararon muestras de hisopos artificiales positivos para la gripe A y B recubriendo cada hisopo con 10 microlitros de dilución del virus. Para crear los hisopos coinfectados, se añadió gripe A diluida (a una concentración de aproximadamente 30 veces el LOD) al hisopo cercano al LOD de la gripe B. De un modo similar, se añadió gripe B diluida (a una concentración de aproximadamente 30 veces el LOD) al hisopo cercano al LOD de la gripe A. No se observó ningún efecto en el rendimiento de la prueba.

Contaminación por transmisión

Se llevó a cabo un estudio analítico de transmisión para demostrar que cuando se siguen las prácticas de laboratorio recomendadas, existe un bajo riesgo de falsos positivos a causa de la contaminación por transmisión o cruzada en la prueba ID NOW Influenza A & B 2. Las reservas de cepas de la gripe A y B suministradas por el proveedor se diluyeron en MTU hasta aproximadamente 30 veces el límite de detección. Se prepararon muestras de hisopos artificiales positivos para la gripe A y B recubriendo cada hisopo con 10 microlitros de dilución del virus. Las pruebas de los hisopos artificiales positivos se alternaron con las pruebas de muestras de hisopos negativos hasta un total de 15 veces. No se obtuvo ningún resultado falso positivo.

Se llevó a cabo un estudio adicional de transmisión con pruebas de muestras artificiales positivas en MTV que se alternaron con muestras negativas en MTV siguiendo el procedimiento de análisis de hisopos nasales o nasofaríngeos eluidos en medios de transporte viral hasta un total de 15 veces. No se obtuvo ningún resultado falso positivo.

Estudios de exención de CLIA:

Como parte del estudio prospectivo (como se describe en la sección Características de rendimiento anterior), se evaluó la precisión de ID NOW Influenza A & B 2 utilizado por operadores sin experiencia de laboratorio, representativos de los usuarios previstos en centros de análisis exentos de CLIA. El estudio se realizó en diez (10) centros exentos de CLIA con la participación de 35 usuarios previstos. No se proporcionó formación sobre el uso de la prueba a los operadores.

Se incluyeron en este estudio un total de 1110 muestras de hisopos nasales o nasofaríngeos. De ellas, 31 muestras de hisopos nasales o nasofaríngeos no cumplían los criterios de elegibilidad. Se analizaron un total de 1079 muestras con ID NOW Influenza A & B 2. En la tabla siguiente se presenta la distribución de las muestras evaluables por edad y sexo de los pacientes.

Globalmente, se analizaron 1079 muestras de hisopos nasales o nasofaríngeos por posibles usuarios de la prueba en centros exentos de CLIA con ID NOW Influenza A & B 2, y los resultados se compararon con los de un ensayo PCR de transcriptasa inversa en tiempo real (PCR en tiempo real), aprobado por la FDA, que era el método de referencia de este estudio. De las 1079 muestras, ID NOW Influenza A & B 2 generó resultados no válidos con 4 muestras de hisopos directos tras repetir las pruebas según las instrucciones del producto, con un resultado total de 1075 muestras para el análisis de rendimiento de hisopos directos. ID NOW Influenza A & B 2 generó resultados no válidos con 11 muestras de medios de transporte viral tras repetir las pruebas según las instrucciones del producto y 6 muestras adicionales no cumplieron los criterios de elegibilidad, con un resultado total de 1062 muestras para el análisis de rendimiento de medios de transporte viral.

El rendimiento de ID NOW Influenza A & B 2 en comparación con el ensayo PCR para todas las muestras combinadas, se presenta en las tablas siguientes, incluidos los intervalos de confianza del 95 % (IC 95 %).

Hisopo nasal o nasofaríngeo directo – Rendimiento obtenido para la gripe A con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia

ID NOW™ Influenza A & B 2 - Gripe A	Método de referencia		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	261	21[a]	282
Negativo	11[b]	782	793
Total	**272**	**803**	**1075**
Sensibilidad: 261/272 96,0 % (95 %CI: 92,9 %-98,0 %)			
Especificidad: 782/803 97,4 % (95 %CI: 96,0 %-98,4 %)			

[a] *Se detectó ácido nucleico de la gripe A en 6/21 muestras positivas falsas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

[b] *Se detectó ácido nucleico de la gripe A en 4/11 muestras negativas falsas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

Hisopo nasal o nasofaríngeo directo – Rendimiento obtenido para la gripe B con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia

ID NOW™ Influenza A & B 2 - Gripe B	Método de referencia		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	97	28[a]	125
Negativo	0	950	950
Total	**97**	**978**	**1075**
Sensibilidad: 97/97 100 % (95 %CI: 96,3 %-100,0 %)			
Especificidad: 950/978 97,1 % (95 %CI: 95,9 %-98,1 %)			

[a] *Se detectó ácido nucleico de la gripe B en 21/28 muestras positivas falsas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

Hisopo nasal o hisopo nasofaríngeo eluido en VTM – Rendimiento obtenido para la gripe A con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia

ID NOW™ Influenza A & B 2 - Gripe A	Método de referencia		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	248	12[a]	260
Negativo	19[b]	783	802
Total	**267**	**795**	**1062**
Sensibilidad: 248/267 92,9 % (95 %CI: 89,1 %-95,7 %)			
Especificidad: 783/795 98,5 % (95 %CI: 97,4 %-99,2 %)			

[a] *Se detectó ácido nucleico de la gripe A en 5/12 muestras positivas falsas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

[b] *Se detectó ácido nucleico de la gripe A en 6/19 muestras negativas falsas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

Hisopo nasal o hisopo nasofaríngeo eluido en VTM – Rendimiento obtenido para la gripe B con ID NOW™ Influenza A & B 2 frente al método de referencia

ID NOW™ Influenza A & B 2 - Gripe B	Método de referencia		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	97	22[a]	119
Negativo	0	943	943
Total	**97**	**965**	**1062**
Sensibilidad: 97/97 100 % (95 %CI: 96,3 %-100,0 %)			
Especificidad: 943/965 97,7 % (95 %CI: 96,6 %- 98,6 %)			

[a] *Se detectó ácido nucleico de la gripe B en 18/22 muestras positivas falsas mediante una segunda prueba molecular aprobada por la FDA*

Durante el estudio clínico prospectivo, la tasa inicial de resultados no válidos para las muestras de hisopo nasal o nasofaríngeo directo (antes de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto) fue del 0,8 % (9/1079) (IC del 95 %: 0,4 % a 1,6 %). Después de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto, la tasa de no válidos fue de 0,4 % (4/1079) (IC del 95 %: 0,1 % a 0,9 %).

La tasa de no válidos inicial para los hisopos eluidos en medios de transporte viral fue del 2,2 % (24/1079) (IC del 95 %: 1,5 % a 3,3 %). Después de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto, la tasa de no válidos fue de 1,0 % (11/1079) (IC del 95 %: 0,6 % a 1,8 %).

Estudio con muestras próximas al límite de detección

Se realizó un estudio para evaluar el rendimiento de ID NOW Influenza A & B 2 con muestras débilmente reactivas, analizadas por usuarios sin formación. Se analizaron paneles aleatorizados y enmascarados con códigos que contenían muestras de gripe A y gripe B con resultados negativos, positivos bajos (próximas al límite de detección [LOD] o valor de corte del ensayo) y positivos moderados con ID NOW Influenza A & B 2 en tres centros exentos de CLIA (300 pruebas en total). Participaron en el estudio seis usuarios sin formación de los centros exentos de CLIA. Las pruebas de los paneles se llevaron a cabo durante un mínimo de 6 días en cada centro, y las pruebas se integraron en el flujo de trabajo diario de los usuarios. El rendimiento de ID NOW Influenza A & B 2 con muestras próximas a los valores de corte del ensayo fue aceptable cuando la realizaron usuarios sin formación.

Pruebas de la gripe A y B con muestras próximas al valor de corte del ensayo (LOD)

	Método hisopo directo		**Método VTM**	
	Usuarios sin formación		**Usuarios sin formación**	
Tipo de muestra	**% de detección**	**IC del 95 %**	**% de detección**	**IC del 95 %**
Positivo bajo en gripe A	98,3 % (59/60)	91,1 %, 99,7 %	100 % (60/60)	94,0 %, 100 %
Positivo moderado en gripe A	98,3 % (59/60)	91,1 %, 99,7 %	98,3 % (59/60)	91,1 %, 99,7 %
Positivo bajo en gripe B	98,3 % (57/58)	90,9 %, 99,7 %	100 % (60/60)	94,0 %, 100 %
Positivo moderado en gripe B	100 % (59/59)	93,9 %, 100 %	100 % (60/60)	94,0 %, 100 %
Negativo verdadero[1]	100 % (60/60)	94,0 %, 100 %	100 % (60/60)	94,0 %, 100 %

[1]*El porcentaje de detección está correlacionado con el porcentaje de resultados negativos.*

Se llevaron a cabo estudios analíticos flexibles en ID NOW Influenza A & B 2 utilizando el análisis de riesgo como guía. Las pruebas evaluaron numerosas fuentes de posibles errores humanos y factores ambientales que podrían afectar la precisión de los resultados, incluyendo aquellos relacionados con la manipulación de la muestra, la manipulación de reactivos y las condiciones extremas de operación. Los estudios demostraron que la prueba es robusta a las variaciones en el uso y los factores medioambientales que podrían encontrarse.

SÍMBOLOS

 Frágil, manipular con cuidado	BASE Base de prueba	CARTRDG Cartucho de transferencia
RCVR Receptor de muestra	℞ Only Solo con prescripción (aplicable a EE. UU. exclusivamente)	 Precaución, consulte la documentación adjunta.

INFORMACIÓN de CONTACTO y SOLICITUDES

Números para pedidos adicionales:

427-000: ID NOW Influenza A & B 2 - 24 Test Kit [Kit de análisis]

425-080: ID NOW Influenza A & B 2 Control Swab Kit [Kit de hisopo de control]

EE. UU. +1 877 441 7440
Fuera de EE. UU. +1 321 441 7200

Línea de asistencia técnica
Puede obtener más información a través de su distribuidor o poniéndose en contacto con el servicio de asistencia técnica:

EE. UU.
+1 855 731 2288 ts.scr@abbott.com

África, Rusia, CEI
+44 161 483 9032 EMEproductsupport@abbott.com

Asia-Pacífico
+61 7 3363 7711 APproductsupport@abbott.com

Canadá
+1 800 818 8335 CANproductsupport@abbott.com

Europa y Oriente Próximo
+44 161 483 9032 EMEproductsupport@abbott.com

América Latina
+57 (1) 4824033 LAproductsupport@abbott.com

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Williams, KM, Jackson MA, Hamilton M. Rapid Diagnostic Testing for URIs in Children: Impact on Physician Decision Making and Cost. Infect. Med. 19(3): 109-111, 2002.
2. Bonner, A.B. et al. Impact of the Rapid Diagnosis of Influenza on Physician Decision-Making and Patient Management in the Pediatric Emergency Department: Results of a Randomized, Prospective, Controlled Trial. Pediatrics. 2003 Vol. 112 No. 2.

Abbott

Abbott Diagnostics Scarborough, Inc.
10 Southgate Road
Scarborough, Maine 04074 USA
www.abbott.com/poct

CE IVD

© 2020 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

Software © 2020 Axxin, used under license.
All trademarks referenced are trademarks of their respective owners.
This product is licensed and sold under agreement with Biosearch Technologies, Inc.
This product is sold under license from PHRI Properties and may be used under PHRI Properties patent rights only for human *in vitro* diagnostics.

IN427000es Rev.7 2020/06

Abbott
ID NOW
INFLUENZA A & B 2

PI, ES

Size:

8.5 in x 5.5 in

Printed Colors



CMYK

Incoming Inspection Colors
(For Reference Only)
Colors below are not used for printing



PMS 2995 U
Primary Blue

PMS 297 U
Light Blue

PMS 303 U
Dark Blue

PN: IN427000es
Rev: 7

Date of Last Revision:
7.3 2020/06/01

Abbott

ID NOW™

RSV

PROSPECTO

ID NOW™
RSV
PROSPECTO

Para su uso con el ID NOW™ Instrument
Para su uso con muestras nasofaríngeas
Para uso *in vitro* exclusivamente
℞ Only

COMPLEJIDAD CLIA: EXENTO

Para hisopos nasofaríngeos (probados directamente o tras la elución en medios de transporte de virus)

Se requiere un certificado de exención para realizar esta prueba en un centro exento de CLIA. Para obtener información de exención de CLIA y un certificado de exención, póngase en contacto con su departamento de sanidad estatal. Existe información adicional de exención de CLIA en el sitio web de los Centros para Servicios Medicare y Medicaid en www.cms.hhs.gov/CLIA.

Si no se siguen las instrucciones o se modifican las instrucciones del sistema de prueba, la prueba ya no cumplirá los requisitos para su clasificación como exenta.

USO PREVISTO

El ensayo ID NOW™ RSV que se realiza en el ID NOW Instrument es una prueba de diagnóstico *in vitro* molecular rápido que utiliza la tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos para la detección cualitativa del ARN vírico del virus sincicial respiratorio (VSR) en hisopos nasofaríngeos directos e hisopos nasofaríngeos eluidos en un medio de transporte de virus procedentes de pacientes con signos y síntomas de infección respiratoria. Se utiliza como ayuda en el diagnóstico del VSR en niños de <18 años y adultos de ≥60 años, en conjunción con factores de riesgo clínicos y epidemiológicos.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El virus sincicial respiratorio (VSR) es la causa individual más importante de patologías respiratorias en lactantes y niños pequeños, y la causa principal de bronquiolitis infantil. Es la causa más frecuente de hospitalización de lactantes y niños pequeños en países industrializados. Solo en los EE. UU., de 85 000 a 144 000 lactantes con infecciones por VSR son hospitalizados cada año, lo que representa de un 20 % a un 25 % de los casos de neumonía y de hasta el 70 % de los casos de bronquiolitis en el hospital. La carga de morbilidad por el VSR en todo el mundo se calcula en 64 millones de casos y en 160 000 muertes cada año.[1]

La enfermedad causada por el VSR incluye una amplia variedad de síntomas, desde rinitis y otitis media a neumonía y bronquiolitis. La dispersión del virus desde las secreciones nasales contaminadas se produce a través de las gotitas respiratorias grandes y para su transmisión precisa de contacto cercano con una persona o superficie contaminada.

El VSR es también un problema importante en ancianos, en personas con enfermedades cardiopulmonares y en personas inmunocomprometidas. Las tasas de infección por VSR en asilos de EE. UU. son aproximadamente del 5 % al 10 % por año, con una tasa de mortalidad del 2 % al 8 %, lo que asciende a aproximadamente 10 000 muertes por año entre personas de >64 años de edad.[1]

Un diagnóstico rápido con una mayor sensibilidad es esencial para la detección fiable del VSR, lo que permite un tratamiento del paciente inmediato y eficaz. Un diagnóstico preciso y rápido del VSR puede reducir la duración y los costes de las estancias hospitalarias, el uso de antimicrobianos y las complicaciones secundarias, y fomentar una aplicación eficaz de medidas de control de la infección.[2]

ID NOW RSV es una prueba isotérmica de detección rápida (menos de 15 minutos) con instrumento para la detección cualitativa de VSR A y VSR B en hisopos nasofaríngeos e hisopos nasofaríngeos eluidos en un medio de transporte de virus. El ID NOW Instrument ocupa poco espacio y tiene una interfaz gráfica de usuario fácil de usar para una mayor comodidad en entornos de mucha actividad, como hospitales y puntos de atención. El kit ID NOW RSV incluye todos los componentes necesarios para realizar un ensayo del VSR en el ID NOW Instrument.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

ID NOW RSV utiliza la tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos para la detección cualitativa de los ácidos nucleicos víricos del VSR A y el VSR B. Está compuesto por un receptor de muestra, que contiene el tampón de elución; una base de prueba, formada por dos tubos de reacción sellados, que contiene cada uno un sedimento liofilizado; un cartucho de transferencia para la transferencia de la muestra eluida a la base de prueba; y el ID NOW Instrument.

Los tubos de reacción de la base de prueba contienen los reactivos necesarios para la amplificación del VSR A y el VSR B, respectivamente, así como un control interno. Los moldes (similares a cebadores) diseñados para tener como diana el ARN de VSR A amplifican una región única del gen no estructural NS2, mientras que los moldes diseñados para amplificar el ARN del VSR B tienen como diana el gen nucleocápsido N. Las balizas moleculares marcadas con fluorescencia se utilizan para identificar específicamente cada una de las dianas del ARN amplificado.

Para realizar el ensayo, el receptor de muestra y la base de prueba se introducen en el ID NOW Instrument. La muestra se añade al receptor de muestra y se transfiere a través del cartucho de transferencia a la base de prueba, con lo cual se inicia la amplificación de la diana. El instrumento se encarga del calentamiento, la mezcla y la detección, y los resultados se comunican automáticamente como negativos o positivos para el VSR, o no válidos.

REACTIVOS Y MATERIALES

Materiales suministrados

Bases de prueba: BASE	los componentes de plástico de color naranja contienen dos tubos de reacción de los reactivos liofilizados para la amplificación específica del ARN vírico del VSR A y del VSR B.
Receptores de muestra: RCVR	componentes de plástico azul que contienen 2,5 ml de tampón de elución.
Cartuchos de transferencia: CARTRDG	componentes de plástico de color blanco utilizados para transferir 2 x 100 µl de extracto de la muestra del receptor de la muestra a la base de prueba.
Hisopos nasofaríngeos:	hisopos estériles para su uso con la prueba ID NOW RSV.
Hisopo de control positivo:	el hisopo de control positivo está recubierto con virus inactivados de VSR A y B.
Hisopo de control negativo:	el hisopo de control negativo está recubierto con estreptococo del grupo C inactivado.

Pipetas desechables de plástico con capacidad para administrar muestras de MTV de 200 µl

Hoja informativa en envase

Instrucciones de referencia rápida

Materiales necesarios no suministrados

ID NOW Instrument

PRECAUCIONES

1. La ley federal restringe la venta de este dispositivo a médicos o por prescripción de un médico titulado.
2. Para su uso con el ID NOW Instrument.
3. Las características de rendimiento de esta prueba solo han sido establecidas con el tipo de muestra indicado en la sección Uso previsto. El rendimiento de este ensayo con otros tipos de muestras no se ha validado.
4. Trate todas las muestras como potencialmente infecciosas. Adopte las precauciones universales al manipular las muestras, este kit y su contenido.
5. Para obtener resultados correctos, resulta fundamental recoger, conservar y transportar las muestras debidamente.
6. Deje las piezas de la prueba selladas en las bolsas de aluminio hasta el momento de su uso. Almacenar los componentes de la prueba fuera de la bolsa a una temperatura superior a 30 °C o a una humedad relativa elevada antes de su uso puede dar lugar a resultados no válidos o falsos.
7. No manipule las piezas de la prueba antes ni después de su uso.
8. No utilice el kit después de su fecha de caducidad.
9. No combine componentes procedentes de diferentes lotes de kits.
10. Las soluciones utilizadas para realizar los hisopos de control se inactivan utilizando métodos estándar. Sin embargo, las muestras, los controles y las piezas de la prueba de los pacientes se deben manipular como si pudiesen transmitir enfermedades. Siga las precauciones establecidas para riesgos microbianos durante su uso y eliminación.
11. **Si algún componente del ensayo se cae, se resquebraja, presenta daños o está abierto cuando se recibe, NO LO UTILICE y deséchelo. No use tijeras ni objetos afilados para abrir las bolsas de papel de aluminio, ya que pueden dañar las piezas de la prueba.**

12. No abra el receptor de muestra hasta que no lo haya colocado en el instrumento, ya que evitaría que el tampón de elución alcance la temperatura adecuada y podría afectar a los resultados de la prueba.
13. Si al abrir el receptor de muestra se derrama, limpie el instrumento de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el Manual del usuario del instrumento y cancele la prueba. Repita la prueba con un nuevo receptor de muestra.
14. Todas las piezas de la prueba deben retirarse del instrumento siguiendo las instrucciones de extracción que se muestran en el instrumento y desecharse de acuerdo con la normativa local y nacional. **Las piezas no deben separarse una vez que se hayan montado.**
15. Todas las piezas de la prueba son de un solo uso, no las utilice con varias muestras.
16. Una vez que ha reaccionado, la base de prueba contiene grandes cantidades de diana amplificada (amplicón). **No desmonte la base de prueba ni el cartucho de transferencia.** En el caso de que una muestra sea positiva, podría provocar la fuga del amplicón y posibles falsos positivos de VSR en ID NOW RSV.
17. Debido a la alta sensibilidad de los ensayos procesados en el instrumento, la contaminación de la zona de trabajo con muestras positivas previas puede causar falsos positivos. Manipule las muestras según las prácticas convencionales de laboratorio. Limpie los instrumentos y las superficies circundantes de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el apartado de limpieza del Manual del usuario del instrumento. Si desea más información, consulte la sección 1.6, Mantenimiento y limpieza.
18. No toque la cabeza de los hisopos de control. Se puede producir una contaminación cruzada con los hisopos de control positivo debido a la elevada sensibilidad de los ensayos que se procesan en el instrumento.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conserve el kit a 2-30 °C. El kit ID NOW RSV es estable hasta la fecha de caducidad indicada en los envases exteriores y los recipientes. Asegúrese de que los componentes alcanzan la temperatura ambiente antes de utilizarlos.

CONTROL DE CALIDAD

ID NOW RSV integra controles de procedimiento. El resultado del control de procedimiento se muestra en la pantalla y se guarda automáticamente en el instrumento con el resultado de cada prueba. Puede revisarse posteriormente mediante la opción Revisar memo. del instrumento.

Controles de procedimiento:

ID NOW RSV incluye un control interno diseñado para controlar el funcionamiento del proceso de amplificación/detección y los reactivos. En muestras positivas en las que la amplificación de la diana es fuerte, se ignora el control interno y la amplificación de la diana sirve como "control" para confirmar que la muestra clínica no era inhibidora y que el rendimiento del reactivo del ensayo era adecuado. A una frecuencia baja, las muestras clínicas pueden contener inhibidores que pueden generar resultados no válidos.

El mensaje "Contr. de proced. válido", que se muestra en la pantalla del instrumento, indica que los reactivos del ensayo han mantenido su integridad funcional y que la muestra no ha inhibido de forma significativa el rendimiento del ensayo.

Controles positivos y negativos externos:

En las buenas prácticas de laboratorio se recomienda el uso de controles positivos y negativos para garantizar que los reactivos de la prueba funcionan y que la prueba se realiza correctamente. Los kits ID NOW RSV contienen hisopos de control positivos y negativos. Dichos hisopos monitorizarán el ensayo completo. Pruebe estos hisopos una vez con cada nuevo envío recibido y una vez para cada operador no cualificado. Se pueden analizar controles adicionales para cumplir las normativas de las leyes nacionales, regionales y locales, grupos de acreditación o los procedimientos de control de la calidad estándar de su laboratorio.

PROCEDIMIENTO DE LOS HISOPOS DE CONTROL

Se proporcionan los hisopos de control positivo y negativo externos, que deben ser probados según las instrucciones para realizar una prueba de CC en el ID NOW Instrument. Consulte el procedimiento de la prueba del hisopo de control de la calidad o el Manual del usuario del instrumento si desea obtener más información.

Nota: *el ID NOW Instrument clasifica los resultados de CC como positivos o negativos. Una prueba de CC de VSR positiva indica un resultado positivo tanto para VSR A como para VSR B.*

Si no se obtienen los resultados correctos con los controles, no realice pruebas de pacientes ni notifique los resultados del paciente. Póngase en contacto con el servicio técnico durante el horario comercial normal antes de analizar muestras de pacientes.

RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Para lograr un rendimiento óptimo de la prueba, utilice muestras recién obtenidas. Si obtiene, manipula, conserva o transporta la muestra de forma incorrecta, los resultados pueden ser erróneos.

Hisopo nasofaríngeo

Para un rendimiento óptimo, utilice el hisopo proporcionado con el kit de análisis. También se pueden utilizar hisopos nasofaríngeos estériles de rayón, espuma o flocados de eje flexible para obtener las muestras nasofaríngeas.

Los hisopos de alginato de calcio y los Puritan Purflock® Ultra flocados no pueden utilizarse en este ensayo.

Para recoger una muestra con un hisopo nasofaríngeo, introduzca con cuidado el hisopo en la fosa nasal que presente el drenaje más visible o en la fosa nasal más congestionada si no hay drenaje visible. Haga pasar el hisopo directamente hacia atrás sin inclinar la punta del mismo hacia arriba o hacia abajo. El conducto nasal discurre paralelo al suelo, no paralelo al puente nasal. Aplicando una ligera rotación, introduzca el hisopo en los orificios nasales, en paralelo al paladar, y haga avanzar el hisopo hacia el interior de la nasofaringe, déjelo ahí unos segundos y, a continuación, hágalo girar con suavidad a medida que lo retira.

Para garantizar la correcta recogida, el hisopo debe llegar hasta una distancia a medio camino entre la nariz y la punta de la oreja. Esta distancia es aproximadamente la mitad de la longitud del hisopo. **NO FUERCE** el hisopo al introducirlo. El hisopo debe desplazarse con suavidad y con la mínima resistencia; si nota resistencia, retire un poco el hisopo sin sacarlo del todo de la fosa nasal. A continuación, eleve la parte posterior del hisopo y muévalo hacia delante, hacia el interior de la nasofaringe.

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Los hisopos nasofaríngeos directos deben analizarse cuanto antes después de la obtención de la muestra. Si no es posible realizar la prueba inmediatamente, puede mantener un hisopo nasofaríngeo directo en su envase original a temperatura ambiente (15-30 °C) durante un máximo de dos (2) horas antes de la prueba. Si una muestra de hisopo nasofaríngeo directo va a guardarse durante más de dos (2) horas, debe refrigerarse a 2-8 °C y analizarse en un plazo de 24 horas a partir del momento de la obtención de la muestra.

Si fuera necesario transportar las muestras de hisopo nasofaríngeo, pueden utilizarse los medios de transporte que se indican a continuación, puesto que ya han sido probados y se consideran aceptables para su uso con ID NOW RSV. Realice una elución de la muestra en 0,5 a 3,0 ml de solución salina o medio de transporte de virus girando la cabeza del hisopo en el líquido durante 10-20 segundos, en el plazo de 1 hora tras la recogida de la muestra. Retire el hisopo y deséchelo. Si no es posible realizar el análisis inmediatamente, puede conservar las muestras eluidas del hisopo a temperatura ambiente (15-30°C) hasta ocho (8) horas antes de realizar la prueba. Si la muestra eluida del hisopo va a guardarse durante más de ocho (8) horas, debe refrigerarse a 2-8 °C y analizarse en un plazo de 24 horas a partir del momento de recogida de la muestra. Si fuera necesario, transporte la muestra a 2-8 °C en un recipiente estanco.

Dé vueltas suavemente a las muestras eluidas del hisopo en el medio de transporte para que se mezclen antes de analizarlas. Si las muestras se han refrigerado, es necesario atemperar estas a temperatura ambiente antes de realizar la prueba con ID NOW RSV.

Nota: *se recomienda la mínima dilución posible de la muestra, ya que la dilución puede tener como resultado una menor sensibilidad de la prueba.*

Medios de transporte:

Medio de Amies
Medio Dulbecco's Modified Eagles (DMEM)
Medios M4
Medios M4-RT
Medios M5
Medios M6
Solución salina tamponada con fosfato
Solución salina
Caldo triptosa fosfato
Caldo de infusión de ternera
Medios de transporte universales
Medios Starplex Multitrans
Medios Vircell

PROCEDIMIENTO DEL TEST

Antes de realizar el análisis con ID NOW RSV:

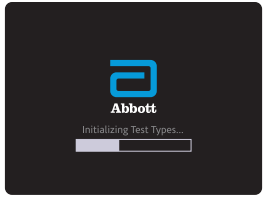
- Deje que todas las muestras alcancen la temperatura ambiente.
- Deje que todas las piezas de la prueba alcancen la temperatura ambiente.
- Compruebe que haya sedimentos de reactivo visibles en la parte inferior de todos los tubos de reacción antes de insertar la base de prueba en el ID NOW Instrument. No utilice la base de prueba si no puede ver los sedimentos en la parte inferior de cada tubo de reacción.

Ejecución de la prueba:

Paso 1

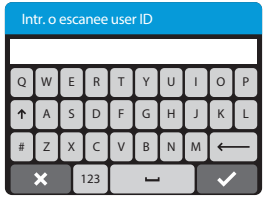
Encienda el ID NOW Instrument: pulse el botón de alimentación ⏻ situado a un lado del instrumento.

Nota: *si la unidad está inactiva durante una hora, el instrumento cambiará al modo de ahorro de energía y la pantalla quedará en negro. Toque la pantalla para que la unidad vuelva a activar la pantalla.*



Introduzca el ID del usuario

Pulse '✓' tras la introducción.



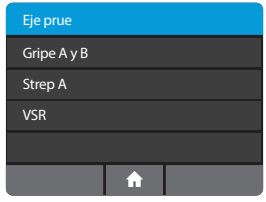
Toque "Eje prue"

De este modo comenzará el proceso de análisis.



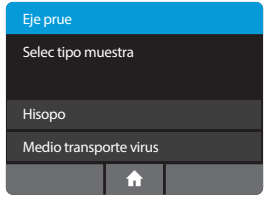
Toque "VSR"

Esto inicia la prueba de VSR.



Seleccione el tipo de muestra

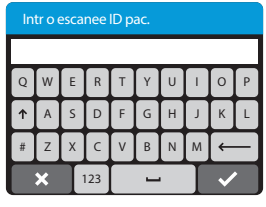
Si el tipo de muestra ya ha sido especificado por el administrador, el instrumento pasará automáticamente al siguiente paso.



Introduzca el ID del paciente mediante el teclado en pantalla o el escáner de códigos de barras

Toque "✓".

Verifique que el ID se haya introducido correctamente y, a continuación, toque "✓" para confirmarlo.



Paso 2

Abra la tapa e inserte la base de prueba naranja en el soporte para dicha base.

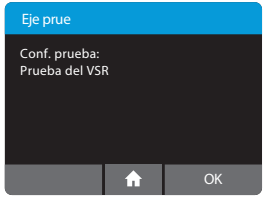
⚠ Precaución: no ejerza demasiada fuerza. Una fuerza excesiva podría dañar el instrumento.





Confirme que se muestra la prueba correcta en la pantalla.

Toque “OK” para continuar.



⚠ Precaución: una vez colocada la base de prueba en su soporte, el usuario dispone de 10 minutos para confirmar la prueba. Si la prueba no se confirma antes de 10 minutos, el instrumento se desconectará automáticamente y la base de prueba deberá retirarse y desecharse.

Si se ha insertado una base de prueba incorrecta, retire y deseche dicha base. Cierre la tapa. El instrumento ejecutará a continuación una autocomprobación antes de pasar a la pantalla de inicio. Pulse “Eje prue” y reinicie la prueba con la base de prueba correcta.

Paso 3

Inserte el receptor de muestra azul en el soporte de dicho receptor.

⚠ Precaución: no ejerza demasiada fuerza. Una fuerza excesiva podría dañar el instrumento.



⚠ Precaución: confirme que el precinto de papel de aluminio del receptor de muestra indica que es adecuado para su uso con ID NOW RSV. En caso contrario, retire el receptor de muestra y sustitúyalo por uno nuevo compatible con ID NOW RSV.

⚠ **Precaución: una vez colocado el receptor de muestra en su soporte, el usuario dispone de 10 minutos para iniciar la prueba (pasos 3 a 5). Si la prueba no se inicia antes de 10 minutos, el instrumento se desconectará automáticamente y todas las piezas de la prueba (base de prueba y receptor de muestra) deberán retirarse y desecharse. El instrumento pasará a la pantalla de inicio. Pulse "Eje prue" y reinicie la prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

Espere a que el receptor de muestra se caliente.



⚠ **Precaución: NO RETIRE EL SELLADO HASTA QUE ASÍ LO INDIQUE EL INSTRUMENTO. NO** cierre la tapa ni inserte la muestra hasta que el instrumento se lo indique.

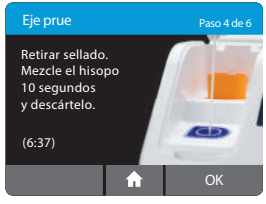
Paso 4

Procedimiento de la prueba con hisopo nasofaríngeo directo

Cuando se solicite, retire el sellado y coloque el hisopo del paciente que desea analizar en el receptor de muestra.



Agite enérgicamente el hisopo en el líquido durante 10 segundos. Presione la cabeza del hisopo contra el lateral del receptor de muestra mientras lo agita. Esto ayuda a extraer la muestra del hisopo. Cuando retire el hisopo, **pulse de inmediato "OK" para continuar**.

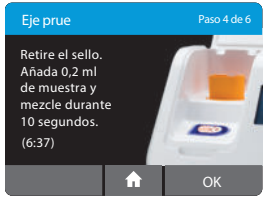


⚠ **Precaución: para garantizar que el receptor de muestra permanece en el instrumento mientras se retira el sellado, ponga dos dedos a lo largo del borde externo del receptor de muestra para mantenerlo en su lugar. Si el receptor de muestra rebosa después del calentamiento, cancele la prueba pulsando el botón Inicio. Retire y deseche las piezas de la prueba (receptor de muestra y base de prueba) y limpie el instrumento. Pulse "Eje prue" para iniciar una nueva prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

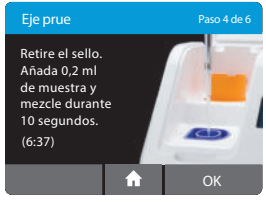
Deseche el hisopo.
Vaya al paso 5a.

Procedimiento de la prueba con hisopo nasofaríngeo eluido en medio de transporte de virus

Cuando se le solicite, quite el sellado y añada 0,2 ml de muestra al receptor de muestra, usando las pipetas desechables suministradas en el kit.



Agite enérgicamente la muestra en el líquido durante 10 segundos. Use la pipeta para agitar el líquido. Una vez que se haya mezclado la muestra y retirado la pipeta, **pulse de inmediato "OK" para continuar.** Prosiga y vaya al paso 5a.



⚠ **Precaución: para garantizar que el receptor de muestra permanece en el instrumento mientras se retira el sellado, ponga dos dedos a lo largo del borde externo del receptor de muestra para mantenerlo en su lugar. Si el receptor de muestra rebosa después del calentamiento, cancele la prueba pulsando el botón Inicio. Retire y deseche las piezas de la prueba (receptor de muestra y base de prueba) y limpie el instrumento. Pulse "Eje prue" para iniciar una nueva prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

Paso 5a

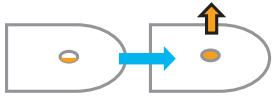
Presione el cartucho de transferencia blanco en el interior del receptor de muestra azul.

Presione hasta que oiga un clic.



Cuando el cartucho de transferencia está correctamente conectado al receptor de muestra, el indicador naranja del cartucho de transferencia se eleva. Si el indicador naranja no se eleva, continúe presionando sobre el receptor de muestra hasta que lo haga.

⚠ **Precaución: debe observarse el indicador naranja muy atentamente. Si el indicador naranja no se eleva completamente, el cartucho de transferencia no podrá recoger suficiente muestra.**



Paso 5b

Levante y, a continuación, conecte el cartucho de transferencia a la base de prueba.



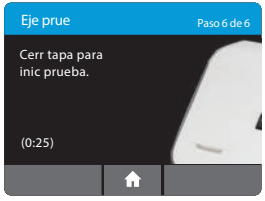
Cuando el cartucho de transferencia está correctamente acoplado a la base de prueba, el indicador naranja del cartucho de transferencia desciende. Si el indicador naranja no desciende, continúe presionando sobre la base de prueba hasta que lo haga.



⚠ **Precaución: Si el indicador naranja no desciende completamente, no se dispensará suficiente muestra. Esto puede generar resultados de prueba no válidos.**

Paso 6

Cierre la tapa.





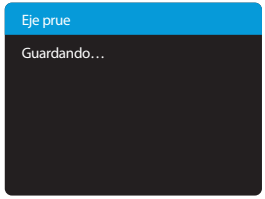
NO ABRA LA TAPA hasta que aparezca el mensaje **Prueba completada** en la pantalla.

Nota: *la prueba se cancelará si se abre la tapa.*

⚠ **Precaución: esta pantalla se mostrará durante un máximo de 30 segundos una vez detectado el cartucho de transferencia. Si para entonces el instrumento no detecta que se ha cerrado la tapa, se desconectará automáticamente y todas las piezas de la prueba (receptor de muestra, base de prueba y cartucho de transferencia) deberán retirarse y desecharse. El instrumento pasará a la pantalla de inicio. Recoja una nueva muestra del paciente. Pulse "Eje prue" y reinicie la prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

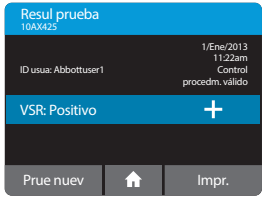
⚠ **Precaución: NO ABRA LA TAPA. La prueba se cancelará y todas las piezas de la prueba (receptor de muestra, base de prueba y cartucho de transferencia) deberán retirarse y desecharse. No se notificará el resultado de la prueba ni se guardará en la memoria del instrumento.**

Cuando se completen la amplificación y detección, el instrumento guardará automáticamente los datos antes de pasar a la pantalla de resultados.



⚠ **Precaución: la prueba no se guardará hasta que se muestren los resultados completos. No abra la tapa hasta que se muestren los resultados.**

Si la prueba se completa con éxito, la pantalla **Resul prueba** mostrará un resultado positivo o negativo. Si se produce un error en la prueba, en la pantalla se leerá “Inval.”. Consulte la sección Interpretación del resultado para obtener información sobre la interpretación de resultados.



Pulse “Impr.” para imprimir los resultados de la prueba. Pulse “Prue nuev” para realizar otra prueba. Pulse “Inicio” para volver a la pantalla de inicio.

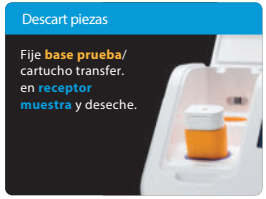
Después de imprimir, o si selecciona “Prue nuev” o “Inicio”, el instrumento le indicará que debe abrir la tapa y desechar las piezas de la prueba.



Retire las piezas de la prueba. Para ello, levante el cartucho de transferencia acoplado a la base de prueba y encájelo con un clic en el receptor de muestra, presionándolo hacia el interior del receptor.

⚠ **Precaución: no intente retirar el receptor de muestra de ningún otro modo, ya que existe el riesgo de que rebose la muestra del paciente.**

Todas las piezas de la prueba estarán conectadas y ahora se podrán retirar del instrumento y desechar de conformidad con las normas federales, estatales y locales.



⚠ **Precaución: NO desmonte el cartucho de transferencia ni la base de prueba antes de desecharlos.**

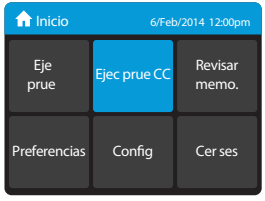
Cierre la tapa. El instrumento volverá a realizar una autocomprobación antes de mostrar la pantalla de inicio o la pantalla de introducción de ID del paciente, en función de la selección anterior.



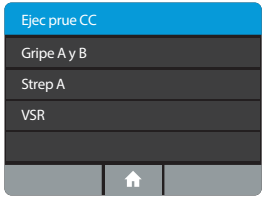
Procedimiento de la prueba para hisopos de control de la calidad

Si se trata de una prueba de CC, seleccione “Ejec prue CC” en la pantalla de inicio y siga las instrucciones que se muestran. Consulte en el Manual del usuario del instrumento ID NOW el apartado dedicado a la realización de una prueba de CC para ver más detalles.

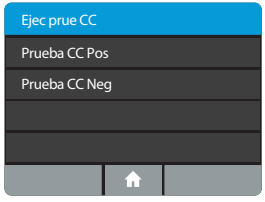
1. Toque “Ejec prue CC”



2. Toque “VSR”

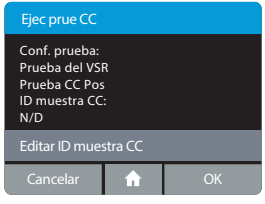


3. Seleccione la prueba de CC que desea realizar



4. Confirme la prueba

Pulse “OK” para confirmar que el tipo de prueba coincide con la muestra del CC que desea analizar y siga las indicaciones que aparecen en pantalla para realizar la prueba.

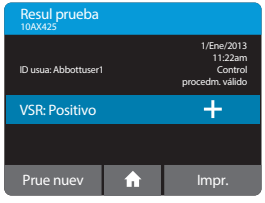
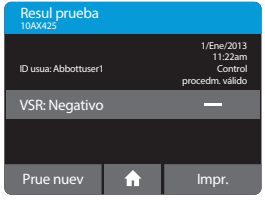
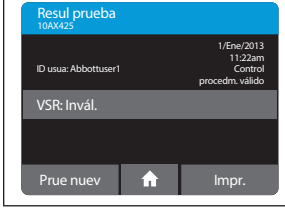


El usuario tiene la opción de introducir un ID para la muestra de CC que se está analizando.

Nota: *la prueba de CC se ejecuta de la misma manera que con el hisopo nasofaríngeo directo. Consulte en la sección* ***Ejecución de la prueba*** *más arriba las instrucciones paso a paso para muestras de hisopo nasofaríngeo.*

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO

Cuando la prueba se haya completado, los resultados se visualizarán claramente en la pantalla del instrumento.

Pantalla del instrumento	Interpretación de los resultados
	**Positivo para el ARN vírico de VSR.**
	**Negativo para el ARN vírico de VSR.**
	**No válido.** Repita de inmediato el análisis de la muestra según las siguientes instrucciones.

Si se obtiene un resultado no válido, se puede realizar una prueba adicional con el mismo receptor de muestra. Se deben seguir las instrucciones siguientes:

- Saque la base de prueba y el cartucho de transferencia conectados del instrumento y conecte la parte de la base de prueba a un receptor de muestra abierto y SIN USAR. La base de prueba y el cartucho de transferencia conectados DEBEN conectarse a un receptor de muestra antes de su eliminación. Puede usar el receptor de muestra de un paquete de cartucho de transferencia nuevo para este fin.
- Extraiga el receptor de muestra azul por separado y con cuidado del instrumento. El receptor de muestra debe mantenerse en posición vertical para evitar que se derrame el contenido líquido.
- Inicie una nueva prueba desde la pantalla de inicio. Siga las indicaciones de la pantalla; sin embargo, cuando se le pida que inserte el receptor de la muestra, utilice el receptor de la muestra anterior y NO vuelva a eluir el hisopo. La prueba se repetirá utilizando el líquido que queda en el receptor de la muestra, no es necesario recoger una nueva muestra con hisopo nasofaríngeo.

LIMITACIONES

- El rendimiento de ID NOW RSV se ha evaluado solamente con los procedimientos indicados en esta hoja informativa en envase. La modificación de estos procedimientos puede alterar el rendimiento de la prueba.
- El rendimiento de ID NOW RSV depende de la carga vírica del ARN y puede no correlacionarse con un cultivo celular realizado con la misma muestra. El ácido nucleico viral puede permanecer *in vivo* independientemente de la viabilidad del virus. La detección de dianas de analitos no implica que los virus correspondientes sean infecciosos, ni que sean los agentes causantes de los síntomas clínicos.
- Existe el riesgo de obtener falsos negativos debido a la presencia de variantes secuenciales de las dianas víricas del ensayo. Si el virus muta en las regiones diana, los virus VSR pueden no ser detectados o detectarse de forma menos eficaz. Asimismo, si la variante secuencial se produce en la secuencia diana reconocida por la baliza molecular marcada fluorescentemente, es posible que se obtenga un resultado no válido en el ensayo.
- Los falsos negativos se pueden dar cuando una muestra se recoge, transporta o manipula de forma incorrecta. Los falsos negativos se pueden dar cuando en la muestra existen niveles de virus inadecuados.
- La mucina puede interferir en la detección del VSR a niveles superiores al 0,0625 % p/v.
- Esta prueba no se ha diseñado para diferenciar los subtipos de VSR. Si se requiere una diferenciación de los subtipos específicos del VSR, se necesitarán otras pruebas, previa consulta a los departamentos de salud pertinentes, estatales o locales.
- Los resultados negativos no excluyen la infección por el VSR, y las decisiones sobre el tratamiento del paciente no deben basarse exclusivamente en estos resultados.
- Esta prueba no ha sido evaluada para pacientes sin signos o síntomas de infección respiratoria.
- La reactividad cruzada con organismos de las vías respiratorias distintos a los que son objeto de la prueba del estudio de especificidad analítica puede ocasionar resultados erróneos.
- Este ensayo no ha sido evaluado para personas inmunodeficientes.
- Se trata de una prueba cualitativa que no proporciona un valor cuantitativo del organismo detectado como presente.
- Los valores predictivos positivos y negativos dependen en gran medida de la prevalencia. El rendimiento del ensayo se estableció durante la temporada de enfermedades respiratorias de 2015 a 2016. Los valores predictivos positivos y negativos pueden variar en función de la prevalencia y la población sometida a la prueba.

VALORES PREVISTOS

La prevalencia del VSR varía de año en año; la tasa de positividad encontrada en las pruebas del VSR depende de muchos factores, incluidos el método de obtención de la muestra, el método de prueba utilizado, la época del año, la edad del paciente y la prevalencia de la enfermedad en localidades específicas. En el estudio clínico prospectivo multicéntrico de ID NOW RSV (descrito en la sección "Estudio clínico" más adelante), se determinaron como evaluables un total de 506 muestras de hisopos nasofaríngeos. El número y el porcentaje de casos positivos de VSR por grupo de edad, según lo determinado por el ensayo ID NOW RSV, se muestran más abajo:

Positivo al VSR por el ensayo ID NOW™ RSV por grupo de edad

Grupo de edad (Años)	Número de muestras de hisopos nasofaríngeos	Número de positivos al VSR	Tasa de positividad al VSR
<1	122	58	48 %
1 a 5	243	82	34 %
6 a 10	58	0	0 %
11 a 18	41	1	2 %
≥60	42	5	12 %
Total	506	146	29 %

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estudio clínico:

Las características de rendimiento de la prueba ID NOW RSV se evaluaron en un estudio prospectivo multicéntrico realizado durante la temporada de enfermedades respiratorias 2015-2016 en los EE. UU. Participaron en el estudio un total de nueve centros de investigación de todo el país.

En el estudio, se obtuvieron dos hisopos nasofaríngeos de una de las fosas nasales de cada sujeto mediante métodos de recogida estándar. En todos los centros, se analizó directamente un hisopo nasofaríngeo en ID NOW RSV, de acuerdo con el procedimiento del test para **hisopo nasofaríngeo directo**. El otro hisopo nasal se eluyó en 3 ml de medio de transporte de virus (MTV). Las muestras se analizaron y procesaron mediante el ensayo ID NOW RSV según el procedimiento del test para **hisopos nasofaríngeos eluidos en medios de transporte de virus**. En este estudio, como método de comparación, se utilizó una prueba de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR en tiempo real) aprobado por la FDA. Todas las muestras discrepantes se analizaron en un ensayo de PCR en tiempo real diferente aprobado por la FDA.

Las pruebas de control externas mediante los controles positivos y negativos de ID NOW RSV se llevaron a cabo antes de analizar las muestras cada día y en cada ID NOW Instrument en todos los centros del estudio.

Se incluyó en este estudio un total de 530 muestras de hisopos nasofaríngeos. De estas muestras, 24 no cumplían los criterios de elegibilidad. Se consideraron evaluables un total de 506 muestras de hisopos nasofaríngeos. En la tabla siguiente se presenta la distribución de las muestras evaluables por edad y sexo de los pacientes.

Distribución por edad y sexo

Grupo de edad (años)	Mujeres	Hombres
<1	56	66
1 a 5	114	129
6 a 10	27	31
11 a 18	19	22
≥60	20	22
Total	236	270

El rendimiento de ID NOW RSV comparado con el método de referencia PCR en tiempo real se muestra en las siguientes tablas.

Hisopo nasofaríngeo directo –
ID NOW™ RSV frente al método de referencia

ID NOW™ RSV	Método de referencia		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	137	7[a]	144
Negativo	2	351	353
Total	139	358	497
Sensibilidad: 137/139 98,6 % (IC del 95 %: 94,9 %-99,6 %)			
Especificidad: 351/358 98,0 % (IC del 95 %: 96,0 %-99,1 %)			

[a] Se detectó ácido nucleico del VSR en 6/7 muestras falsamente positivas utilizando una prueba molecular aprobada por la FDA

Hisopo nasofaríngeo eluido en medio de transporte de virus –
ID NOW™ RSV frente al método de referencia

ID NOW™ RSV	Método de referencia		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	138	8[a]	146
Negativo	2	353	355
Total	140	361	501
Sensibilidad: 138/140 98,6 % (IC del 95 %: 94,9 %-99,6 %)			
Especificidad: 353/361 97,8 % (IC del 95 %: 95,7 %-98,9 %)			

[a] Se detectó ácido nucleico del VSR en 6/8 muestras falsamente positivas utilizando una prueba molecular aprobada por la FDA

Durante el estudio clínico prospectivo, la tasa inicial de resultados no válidos para las muestras de hisopo nasofaríngeo directo (antes de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto) fue del 4,1 % (21/506) (IC del 95 %: 2,7 % a 6,3 %). Después de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto, la tasa de no válidos fue del 0,8 % (4/506) (IC del 95 %: 0,3 % a 2,0 %).

La tasa de no válidos inicial para los hisopos nasofaríngeos eluidos en medios de transporte de virus fue del 2,2 % (11/506) (IC del 95 %: 1,2 % a 3,9 %). Después de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto, la tasa de no válidos fue del 0 % (0/506) (IC del 95 %: 0,0 % a 0,8 %).

ESTUDIOS ANALÍTICOS:

Reproducibilidad

Operadores de tres centros realizaron un estudio de reproducibilidad de ID NOW RSV utilizando paneles de muestras ciegas que contenían muestras del VSR A y B negativas, positivas bajas (en el límite de detección) y positivas moderadas (sobre el límite de detección).

Los participantes analizaron varias muestras de cada miembro del panel en cinco días diferentes. Los porcentajes de coincidencia con los resultados previstos para las muestras positivas moderadas y positivas bajas del VSR A fueron del 100 % (89/89) y del 98,9 % (89/90), respectivamente. Los porcentajes de coincidencia con el resultado previsto para las muestras positivas moderadas y positivas bajas del VSR B fueron del 98,9 % (89/90) y del 100 % (90/90), respectivamente. Todas las muestras ciertamente negativas (90) generaron resultados negativos en las pruebas. No se observaron diferencias significativas en una misma secuencia (réplicas analizadas por un operador), entre secuencias (cinco días diferentes), entre centros (tres centros) o entre operadores (nueve operadores).

En la tabla siguiente se presentan los resultados cualitativos del estudio de reproducibilidad de un centro a otro (coincidencia con los resultados previstos):

Resultados cualitativos del estudio de reproducibilidad de un centro a otro

Categoría de la muestra		CENTRO			Porcentaje de coincidencia total e IC del 95 %	
		Centro 1	Centro 2	Centro 3		
LP[1] VSR A	Porcentaje de coincidencia	96,7 %	100 %	100 %	98,9 % (89/90)	(94,0 %, 99,8 %)
	Recuento	29/30	30/30	30/30		
MP[1] VSR A	Porcentaje de coincidencia	100 %	100 %	100 %	100 % (89/89)	(95,9 %, 100 %)
	Recuento	29/29	30/30	30/30		
LP[1] VSR B	Porcentaje de coincidencia	100 %	100 %	100 %	100 % (90/90)	(95,9 %, 100 %)
	Recuento	30/30	30/30	30/30		
MP[1] VSR B	Porcentaje de coincidencia	100 %	96,7 %	100 %	98,9 % (89/90)	(94,0 %, 99,8 %)
	Recuento	30/30	29/30	30/30		
TN[1,2]	Porcentaje de coincidencia	100 %	100 %	100 %	100 % (90/90)	(95,9 %, 100 %)
	Recuento	30/30	30/30	30/30		

[1] Positiva baja (LP), positiva moderada (MP), ciertamente negativa (TN)

[2] El porcentaje de coincidencia se correlaciona con el porcentaje de resultados negativos.

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección (LOD) del ensayo ID NOW RSV se determinó utilizando una cepa caracterizada del VSR A y B.

Las muestras de hisopos supuestamente negativas se eluyeron en MTU. Las eluciones de los hisopos se combinaron y mezclaron bien para crear una reserva de matriz clínica para ser usada como diluyente. Cada cepa del VSR se diluyó en su reserva de matriz de hisopo nasal natural para generar diluciones del virus para las pruebas. Las cepas de virus suministradas por el proveedor fueron diluidas de nuevo y las concentraciones (en $TCID_{50}$/ml) se determinaron mediante un método virológico estándar. La concentración de cada dilución (en equivalentes genómicos/ml) también se evaluó mediante ensayos PCR de laboratorio cuantitativos en tiempo real del VSR desarrollados y validados.

Se prepararon muestras de hisopos artificiales recubriendo el hisopo con 10 microlitros de la dilución de cada uno de los virus. Las muestras de hisopos artificiales se analizaron sin volver a eluirlas en medios de transporte de virus según el procedimiento de la prueba de los hisopos nasofaríngeos directos.

También se analizaron muestras de hisopo artificiales eluidas en MTV de acuerdo con el procedimiento de la prueba de hisopo nasofaríngeo eluido en medios de transporte de virus.

El límite de detección (LOD) de cada cepa del VSR analizada se determinó como la menor concentración vírica detectada ≥95 % del tiempo (es decir, la concentración a la que al menos 19 de las 20 réplicas dieron positivo).

En las tablas siguientes se presentan los límites de detección (LOD) confirmados de la matriz de hisopos nasales naturales, tanto directos como eluidos en MTV para cada cepa del VSR analizada:

Resultados del estudio de límite de detección (LOD) – Análisis de hisopo directo

Cepa del VSR	LOD ($TCID_{50}$/ml)	LOD (equivalentes genómicos/ml)
VSR A/2	$5{,}82 \times 10^{2}$	$7{,}80 \times 10^{4}$
VSR B/9320	$6{,}0 \times 10^{1}$	$5{,}43 \times 10^{3}$

Resultados del estudio de límite de detección (LOD) – Análisis de hisopo eluido en MTV

Cepa del VSR	LOD ($TCID_{50}$/ml)	LOD (equivalentes genómicos/ml)
VSR A/2	$9{,}15 \times 10^{3}$	$1{,}06 \times 10^{6}$
VSR B/9320	$9{,}64 \times 10^{2}$	$1{,}48 \times 10^{5}$

Reactividad analítica (inclusividad)

La reactividad del ensayo ID NOW RSV se evaluó con un panel de tres (3) cepas del VSR.

El ensayo ID NOW RSV detectó todas las cepas analizadas a las concentraciones indicadas en la tabla siguiente:

Resultados del estudio de reactividad analítica

Cepa	Subtipo	Concentración de la prueba (en UFP/ml o equivalentes genómicos)		Resultado de ID NOW™ RSV (n=3)
		UFP/ml	Equivalentes genómicos/ml	
A larga	A	$9{,}38 \times 10^{-2}$	$1{,}75 \times 10^{3}$	Positivo
B1	B	1:20 000	$2{,}37 \times 10^{3}$	Positivo
18537	B	$1{,}00 \times 10^{-1}$	$1{,}37 \times 10^{3}$	Positivo

Especificidad analítica (reactividad cruzada)

Para determinar la especificidad analítica de ID NOW RSV, se analizaron 40 microorganismos comensales patógenos (21 bacterias, 18 virus y 1 hongo) que podrían estar presentes en la cavidad nasal o en la nasofaringe. Todos los microorganismos siguientes dieron negativo en las pruebas a concentraciones que oscilaron entre 10^3 y 10^{10} células/ml o UFC/ml (bacterias), entre 10^4 y 10^8 $TCID_{50}$/ml (virus) y 10^8 células/ml (hongo).

Bacterias

Bordetella pertussis
Corynebacterium diphtheriae
*Escherichia coli**
Haemophilus influenzae
Klebsiella pneumoniae
Neisseria meningitidis
Neisseria sicca
Neisseria subflava
*Proteus vulgaris**
Pseudomonas aeruginosa

Bacterias

Lactobacillus plantarum
Legionella pneumophila
*Moraxella/Branhamella catarrhalis**
Mycobacterium tuberculosis
Mycoplasma pneumoniae
Neisseria gonorrhoeae
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Streptococcus, Grupo A
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus salivarius

Virus

Adenovirus tipo 1
Adenovirus tipo 7
Enterovirus/Coxsackievirus B4
Enterovirus tipo 70
Virus de Epstein Barr
Coronavirus humano 229E
Coronavirus humano OC43
Citomegalovirus humano (CMV) (Herpes V)
Echovirus humano 7 (Wallace)
Metapneumovirus humano
Gripe A
Gripe B
Sarampión (Edmonston)
Paperas (Enders)
Parainfluenza 1
Parainfluenza 2
Parainfluenza 3
Rinovirus tipo 1A

Hongo

Candida albicans

* Se observó cierta reactividad cruzada en *E. coli* a concentraciones superiores a $2{,}75 \times 10^9$, en *Moraxella catarrhalis* a concentraciones superiores a $1{,}50 \times 10^9$, y en *Proteus vulgaris* a concentraciones superiores a $4{,}69 \times 10^8$.

Además, se realizó un análisis *in silico* para determinar si hay alguna superposición significativa entre la secuencia del ácido nucleico diana de ID NOW RSV y los genomas de los siguientes microorganismos de las vías respiratorias altas. Ninguno de los organismos conservó una secuencia genómica que fuera significativamente similar a las secuencias diana de ID NOW RSV.

Bacterias	
Bordetella bronchiseptica	*Neisseria mucosa*
Chlamydia pneumonia	*Proteus mirabilis*
Chlamydia trachomatis	

Virus	
Adenovirus 2	Coronavirus NL63
Adenovirus 3	Coxsackievirus B35
Adenovirus 4	Echovirus 6
Adenovirus 5	Echovirus 9
Adenovirus 11	Echovirus 11
Adenovirus 14	Enterovirus 71
Adenovirus 31	

Sustancias que producen interferencias

Las siguientes sustancias, presentes de forma natural en las muestras respiratorias o que pueden introducirse de forma artificial en la cavidad nasal o en la nasofaringe, se evaluaron con ID NOW RSV a las concentraciones recogidas en la lista siguiente y se halló que no afectaban al rendimiento de la prueba.

Sustancia	**Concentración**
Mucina	0,0625 %
Sangre completa	1 %
Espray NeoSynephrine Cold and Sinus Extra Strength	20 %
Afrin PumpMist Original	20 %
Solución salina Ocean	20 %
Chloroseptic Max	20 %
Zicam Allergy Relief	20 %
Beclometasona	0,068 mg/ml
Budesonida	0,051 mg/ml
Dexametasona	0,48 mg/ml
Flunisolida	0,04 mg/ml
Propionato de fluticasona	0,04 mg/ml
Furoato de mometasona	0,04 mg/ml
Mupirocina	4,3 mg/ml
Tobriamicina	1,44 mg/ml
Triamcinolona	0,04 mg/ml
Zanamivir (Relenza)	0,284 mg/ml

Inhibición por otros microorganismos

Se evaluó el rendimiento de la prueba ID NOW RSV en presencia de agentes patógenos respiratorios que no eran VSR. Las reservas de cepas del VSR A y B suministradas por el proveedor se diluyeron en MTU hasta aproximadamente 3 veces el límite de detección. Se prepararon muestras de hisopos artificiales positivos para el VSR A y B recubriendo cada hisopo con 10 microlitros de dilución del virus. El siguiente panel de virus no VSR se analizó a la concentración indicada en la tabla siguiente, y se halló que no afectaban al rendimiento de la prueba.

Panel de virus	**Concentración ($TCID_{50}$/ml)**
Adenovirus tipo 1	$1{,}58 \times 10^7$
Rinovirus tipo 1A	$1{,}58 \times 10^7$
Gripe A	$5{,}00 \times 10^6$
Gripe B	$1{,}00 \times 10^8$

Contaminación por transmisión

Se llevó a cabo un estudio analítico de transmisión para demostrar que, cuando se siguen las prácticas de laboratorio recomendadas, existe un bajo riesgo de falsos positivos a causa de la contaminación por transmisión o cruzada en la prueba ID NOW RSV. Las reservas de cepas del VSR A y B suministradas por el proveedor se diluyeron en MTU hasta aproximadamente 30 veces el límite de detección. Se prepararon muestras de hisopos artificiales positivos para el VSR A y B recubriendo cada hisopo con 10 microlitros de dilución del virus. Las pruebas de los hisopos artificiales positivos se alternaron con las pruebas de muestras de hisopos negativos hasta un total de 15 veces. Además, las pruebas de las muestras positivas artificiales en MTV se alternaron con muestras negativas en MTV según el procedimiento de la prueba para el hisopo nasofaríngeo eluido en un medio de transporte de virus durante un total de 15 veces. En este estudio no se observaron resultados falsamente positivos.

Estudios de exención de CLIA:

Como parte del estudio prospectivo (como se describe en la sección Características de rendimiento anterior), se evaluó la precisión de ID NOW RSV utilizado por operadores sin experiencia de laboratorio, representativos de los usuarios previstos en centros de análisis exentos de CLIA. Se realizó el estudio en nueve (9) centros exentos de CLIA con la participación de 28 usuarios previstos. No se proporcionó formación sobre el uso de la prueba a los operadores.

El rendimiento de la prueba ID NOW RSV, utilizada por los usuarios previstos, en un centro de análisis exento de CLIA, se describe anteriormente en la sección titulada “Estudio clínico”.

Se realizó un estudio para evaluar el rendimiento de ID NOW RSV con muestras débilmente reactivas, analizadas por usuarios sin formación. Se analizaron paneles aleatorizados y enmascarados con códigos que contenían muestras de VSR A y B con resultados negativos y positivos bajos (próximas al límite de detección [LOD] o valor de corte del ensayo) con ID NOW RSV en tres centros exentos de CLIA (63 pruebas en total). Participaron en el estudio nueve usuarios sin formación en los centros exentos de CLIA. Las pruebas de los paneles se llevaron a cabo durante un mínimo de 6 días en cada centro, y las pruebas se integraron en el flujo de trabajo diario de los usuarios. El rendimiento de ID NOW RSV utilizado por usuarios sin formación con muestras próximas a los valores de corte del ensayo fue aceptable, tal y como se muestra en la tabla que aparece a continuación.

Análisis de muestras próximas al valor de corte del ensayo (LOD) con ID NOW™ RSV

	Usuarios sin formación	
Tipo de muestra	**% de detección**	**IC del 95 %**
Positivo bajo en VSR A	100 % (63/63)	94,3 %, 100 %
Positivo bajo en VSR B	100 % (63/63)	94,3 %, 100 %
Negativo verdadero	0 % (0/63)	0 %, 5,7 %

Se llevaron a cabo estudios analíticos flexibles en ID NOW RSV utilizando el análisis de riesgo como guía. Los estudios demostraron que la prueba no es sensible a las presiones de las condiciones medioambientales y los posibles errores de los usuarios.

SÍMBOLOS

 Frágil, manipular con cuidado	BASE Base de prueba
CARTRDG Cartucho de transferencia	RCVR Receptor de muestra
℞ Only Sujeto a prescripción médica (solo en EE. UU.)	 Precaución, consulte la documentación adjunta.

INFORMACIÓN DE CONTACTO Y SOLICITUDES

Números para pedidos adicionales:

435-000: Kit de análisis ID NOW RSV 24

435-080: Kit de ID NOW RSV Control Swab Kit

EE. UU. +1 877 441 7440
Fuera de EE. UU. +1 321 441 7200

Línea de asistencia técnica
Puede obtener más información a través de su distribuidor o poniéndose en contacto con el servicio de asistencia técnica:

EE. UU.
+1 855 731 2288 ts.scr@alere.com

África, Rusia, CEI
+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

Asia-Pacífico
+61 7 3363 7711 APproductsupport@alere.com

Canadá
+1 800 818 8335 CANproductsupport@alere.com

Europa y Oriente Próximo
+44 161 483 9032 EMEproductsupport@alere.com

América Latina
+57 2 6618797 LAproductsupport@alere.com

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization (WHO) Acute Respiratory Infections (actualizado en septiembre de 2009). [En línea]
   Disponible en: http://apps.who.int/vaccine_research/diseases/ari/en/index2.html
   Fecha de acceso: 20 Nov 2015
2. Williams, KM, Jackson MA, Hamilton M. Rapid Diagnostic Testing for URIs in Children: Impact on Physician Decision Making and Cost. Infect. Med. 19(3): 109-111, 2002.

Abbott

Abbott Diagnostics Scarborough, Inc.
10 Southgate Road
Scarborough, Maine 04074 USA
www.abbott.com/poct

CE IVD

© 2019 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

Software © 2019 Axxin, used under license.
All trademarks referenced are trademarks of their respective owners.
This product is licensed and sold under agreement with Biosearch Technologies, Inc.
This product is sold under license from PHRI Properties and may be used under PHRI Properties patent rights only for human *in vitro* diagnostics.

IN435000es Rev.4 2019/06

Abbott
ID NOW
RSV

PI, ES

Size:

8.5 in x 5.5 in

Printed Colors



CMYK

Incoming Inspection Colors
(For Reference Only)
Colors below are not used for printing



PMS 2995 U
Primary Blue

PMS 324 U
Mint

PMS 303 U
Dark Blue

PN: IN435000es
Rev: 4

Date of Last Revision:
4.6 2019/06

Abbott

ID NOW™ STREP A 2

PROSPECTO

ID NOW™
STREP A 2
PROSPECTO

Para su uso con el ID NOW™ Instrument
Para su uso con muestras faríngeas obtenidas con hisopo
Para uso *in vitro* exclusivamente
℞ Only

COMPLEJIDAD CLIA: EXENTO

Se requiere un certificado de exención para realizar esta prueba en un centro exento de CLIA. Para obtener información de exención de CLIA y un certificado de exención, póngase en contacto con su departamento de sanidad local. En el sitio web de los Centros para Servicios Medicare y Medicaid en www.cms.hhs.gov/CLIA hay información adicional sobre la exención de CLIA.

Si no se siguen las instrucciones o se modifican las instrucciones del sistema de prueba, la prueba ya no cumplirá los requisitos para su clasificación como exenta y se clasificará como de complejidad elevada.

APLICACIONES

ID NOW™ Strep A 2 es una prueba de diagnóstico molecular rápida *in vitro* con instrumento, que utiliza la tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos para la detección cualitativa del ácido nucleico bacteriano del estreptococo del grupo A, *Streptococcus pyogenes*, en muestras faríngeas obtenidas con hisopo de pacientes con signos y síntomas de faringitis. Se utiliza como ayuda para el diagnóstico rápido de las infecciones bacterianas por estreptococos del grupo A.

RESUMEN y EXPLICACIÓN de la PRUEBA

El estreptococo del grupo A *Streptococcus pyogenes* es el patógeno más importante causante de la faringitis. Para un correcto tratamiento de la enfermedad es necesario diagnosticar de forma precisa el agente etiológico. En el caso de estreptococo del grupo A, la terapia con antibióticos es el tratamiento de elección. Si no se trata, pueden producirse complicaciones graves, como fiebre reumática.[1]

Entre los métodos convencionales para detectar la infección por estreptococo del grupo A se incluye la prueba de antígeno rápida o un cultivo de 24-48 horas de muestras faríngeas tomadas con hisopo, seguida de la confirmación de la pertenencia de las colonias beta hemolíticas al estreptococo de grupo A.[1]

Las sensibilidades de la prueba de antígeno rápida varían, y se recomienda un cultivo faríngeo de seguimiento para confirmar los resultados negativos. Cuando personal debidamente formado obtiene y cultiva una muestra faríngea con hisopo adecuada, los falsos negativos se producen solo en menos de un 10 % de los pacientes sintomáticos.[2]

ID NOW Strep A 2 es una prueba isotérmica rápida con instrumento para la detección cualitativa del estreptococo del grupo A directamente de muestras faríngeas tomadas con hisopo que proporciona resultados en seis (6) minutos o menos. El ID NOW Instrument ocupa poco espacio y tiene una interfaz gráfica de usuario fácil de usar para una mayor comodidad en entornos de mucha actividad, como hospitales y entornos de análisis point of care. El kit ID NOW Strep A 2 incluye todos los componentes necesarios para realizar un ensayo del estreptococo del grupo A en el ID NOW Instrument.

PRINCIPIOS del PROCEDIMIENTO

ID NOW Strep A 2 utiliza la tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos para la detección cualitativa de los ácidos nucleicos bacterianos del estreptococo del grupo A. Está compuesto por un receptor de muestra, que contiene el tampón de elución; una base de prueba, formada por dos tubos de reacción sellados, que contiene cada uno un sedimento liofilizado; un cartucho de transferencia para la transferencia de la muestra eluida a la base de prueba; y el ID NOW Instrument.

Los tubos de reacción de la base de prueba contienen los reactivos necesarios para el lisado bacteriano del estreptococo del grupo A y la posterior amplificación del ácido nucleico diana y un control interno. ID NOW Strep A 2 utiliza moldes (similares a los cebadores) para la amplificación específica del ADN del estreptococo del grupo A, y una baliza molecular marcada con fluorescencia diseñada para identificar específicamente las dianas de ácido nucleico amplificadas.

Para realizar el ensayo, el receptor de muestra y la base de prueba se introducen en el ID NOW Instrument. La muestra se añade al receptor de muestra y se transfiere a través del cartucho de transferencia a la base de prueba, de modo que se inicia el lisado bacteriano y la amplificación de la diana. El instrumento se encarga del calentamiento, la mezcla y la detección, e informa automáticamente de los resultados.

REACTIVOS y MATERIALES

Materiales suministrados

Bases de prueba: BASE	Componentes de plástico de color naranja que contienen dos tubos de reacción de agentes liofilizados. Un tubo contiene reactivos para la amplificación específica del ácido nucleico del estreptococo del grupo A, y el otro tubo contiene el control interno.
Receptores de muestra: RCVR	Componentes de plástico azul que contienen 2,5 ml de tampón de elución.

Cartuchos de transferencia: CARTRDG	Componentes de plástico de color blanco utilizados para transferir 2 x 100 µl de extracto de la muestra del receptor de la muestra a la base de prueba.
Hisopos faríngeos:	Hisopos estériles para su uso con la prueba ID NOW Strep A 2.
Hisopo de control positivo:	El hisopo de control positivo está recubierto con bacterias inactivadas del estreptococo del grupo A.
Hisopo de control negativo:	La utilización de un hisopo faríngeo estéril garantiza la obtención de resultados negativos apropiados.

Prospecto

Instrucciones de referencia rápida

Materiales necesarios no suministrados

ID NOW™ Instrument

Fundas o tubos de plástico limpios y secos para el transporte y almacenamiento de muestras de hisopos.

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. solo para clientes de EE. UU. La ley federal restringe la venta de este dispositivo a médicos o por prescripción de un médico titulado.
3. Para su uso con el ID NOW Instrument.
4. Deje las piezas de la prueba selladas en las bolsas de papel de aluminio hasta el momento de su uso.
5. No manipule las piezas de la prueba antes de su uso.
6. No utilice el kit después de su fecha de caducidad.
7. No mezcle los componentes de diferentes lotes de kits.
8. Las soluciones utilizadas para fabricar el hisopo de control positivo se inactivan mediante métodos estándar. Sin embargo, las muestras, los controles y las piezas de la prueba de los pacientes se deben manipular como si pudiesen transmitir enfermedades. Siga las precauciones establecidas para riesgos microbianos durante su uso y eliminación.
9. **Si algún componente del ensayo se cae, se resquebraja, presenta daños o está abierto cuando se recibe, NO LO UTILICE y deséchelo. No use tijeras ni objetos afilados para abrir las bolsas de papel de aluminio, ya que pueden dañar las piezas de la prueba. No toque los tubos de prueba contenidos en la base de prueba.**

10. No utilice un cartucho de transferencia si se cae después de la aspiración de la muestra. Si el cartucho de transferencia se ha caído, deseche el componente y continúe la prueba transfiriendo la muestra con un nuevo cartucho de transferencia.
11. No abra el receptor de muestra hasta que no lo haya colocado en el instrumento.
12. Si al abrir el receptor de muestra se derrama, limpie el instrumento de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el Manual del usuario del instrumento y cancele la prueba. Repita la prueba con un nuevo receptor de muestra.
13. Todas las piezas de la prueba deben retirarse del instrumento siguiendo las instrucciones de extracción que se muestran en el instrumento y desecharse de acuerdo con la normativa local y nacional. **Las piezas no deben separarse una vez que se hayan montado.**
14. Todas las piezas de la prueba son de un solo uso, no las utilice con varias muestras.
15. Una vez que ha reaccionado, la base de prueba contiene grandes cantidades de diana amplificada (amplicón). No desmonte la base de prueba ni el cartucho de transferencia. En el caso de que una muestra sea positiva, esto podría causar la fuga del amplicón y posibles falsos positivos de la prueba con ID NOW Strep A 2.
16. A una frecuencia muy baja, las muestras clínicas pueden contener inhibidores que pueden generar resultados no válidos.
17. Debido a la alta sensibilidad de los ensayos procesados en el instrumento, la contaminación de la zona de trabajo con muestras positivas previas puede causar falsos positivos. Manipule las muestras según las prácticas convencionales de laboratorio. Limpie los instrumentos y las superficies circundantes de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el apartado de limpieza del Manual del usuario del instrumento. Si desea más información, consulte la sección 1.6, Mantenimiento y limpieza.
18. No toque la cabeza de los hisopos de control. Se puede producir una contaminación cruzada con los hisopos de control positivo debido a su alto nivel objetivo y a la sensibilidad de los ensayos que se ejecutan en el instrumento.
19. Los resultados de la prueba deben interpretarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio.
20. El rendimiento de ID NOW Strep A 2 se ha evaluado exclusivamente mediante los procedimientos indicados en este prospecto. La modificación de estos procedimientos puede alterar el rendimiento de la prueba.

21. Se pueden producir falsos resultados negativos si la muestra se recoge, transporta o manipula de forma inadecuada, o si hay cantidades inadecuadas de ADN objetivo presentes en el sistema.
22. Para evitar la contaminación, no mueva el ID NOW Instrument durante un procesamiento o hasta que todos los componentes del ensayo se hayan retirado del instrumento.
23. El indicador naranja se eleva cuando se presiona el cartucho de transferencia en el receptor de muestra hasta oír un clic. El indicador debe descender por completo una vez conectado correctamente a la base de prueba. Si no sigue este procedimiento, se puede obtener un resultado falso negativo o no válido.
24. Al igual que con otros ensayos de este tipo, existe el riesgo de resultados falsos negativos o no válidos debido a la presencia de variantes de secuencia en los objetivos de amplificación.

CONSERVACIÓN y ESTABILIDAD

Conserve el kit a 2-30 °C. El kit ID NOW Strep A 2 es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el embalaje externo y los recipientes. Asegúrese de que los componentes de la prueba alcanzan la temperatura ambiente antes de utilizarlos.

CONTROL de CALIDAD

ID NOW Strep A 2 dispone de controles de procedimiento incorporados. El resultado del control de procedimiento se muestra en la pantalla y se guarda automáticamente en el instrumento con el resultado de cada prueba. Puede revisarse posteriormente mediante la opción Revisar memo del instrumento.

Controles de procedimiento:

ID NOW Strep A 2 contiene un control interno que ha sido diseñado para controlar el funcionamiento del proceso de amplificación/detección y los reactivos. En muestras positivas en las que la amplificación de la diana es fuerte, se ignora el control interno y la amplificación de la diana sirve como “control” para confirmar que la muestra clínica no era inhibidora y que el rendimiento del reactivo del ensayo era adecuado. A una frecuencia baja, las muestras clínicas pueden contener inhibidores que pueden generar resultados no válidos.

Un mensaje que indica que el control del procedimiento es válido que se muestra en la pantalla del instrumento, indica que los reactivos del ensayo han mantenido su integridad funcional y que la muestra no ha inhibido de forma significativa el rendimiento del ensayo.

Controles positivos y negativos externos:

En las buenas prácticas de laboratorio se recomienda el uso de controles positivos y negativos para garantizar que los reactivos de la prueba funcionan y que la prueba se realiza correctamente. Los kits ID NOW Strep A 2 cuentan con un hisopo de control positivo e hisopos estériles que pueden utilizarse como hisopo de control negativo. Estos hisopos pueden utilizarse para demostrar la capacidad de generar resultados positivos y negativos apropiados si se sigue el proceso del ensayo. Analice estos hisopos una vez al realizar un ensayo en el instrumento por primera vez, con cada nuevo envío recibido y una vez para cada operador sin formación. Se pueden analizar controles adicionales para cumplir las normativas de las leyes nacionales, regionales y locales, grupos de acreditación o los procedimientos de control de la calidad estándar de su laboratorio.

PROCEDIMIENTO de los HISOPOS de CONTROL

Deben probarse los controles positivos y negativos después de seguir las instrucciones para ejecutar la prueba de control de calidad en el ID NOW Instrument. El kit incluye un hisopo de control positivo. Utilice el hisopo estéril incluido en el kit como hisopo de control negativo. Consulte el procedimiento de la prueba del hisopo de control de la calidad o el Manual del usuario del instrumento si desea obtener más información.

Si no se obtienen los resultados correctos con los controles, no realice pruebas de pacientes ni notifique los resultados del paciente. Póngase en contacto con el servicio técnico durante el horario comercial normal antes de analizar muestras de pacientes.

RECOGIDA y MANIPULACIÓN de MUESTRAS

Para lograr un rendimiento óptimo de la prueba, utilice muestras recién obtenidas. Si obtiene, manipula, conserva o transporta la muestra de forma incorrecta, los resultados pueden ser erróneos.

Recogida de muestras

Para lograr un rendimiento óptimo, utilice los hisopos que se proporcionan con el kit de prueba. También puede utilizar hisopos faríngeos de espuma, de poliéster, HydraFlock® y nylon para recoger las muestras faríngeas. El sistema de medios de transporte BBL™ CultureSwab™ Liquid Amies se ha probado y también es aceptable.

Los hisopos de rayón y el medio de transporte BBL™ CultureSwab™ Liquid Stuart no pueden utilizarse en este ensayo.

Obtenga la muestra del paciente frotando la faringe posterior, las amígdalas y otras zonas inflamadas. Evite tocar la lengua, las mejillas y los dientes con el hisopo.[3]

TRANSPORTE y CONSERVACIÓN de la MUESTRA

Las muestras del hisopo deben analizarse lo antes posible tras la recogida. Si no es posible realizar el análisis inmediatamente, puede conservar el hisopo faríngeo en su envase original o en un tubo de plástico limpio y seco a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) o refrigerado a 2-8 °C hasta setenta y dos (72) horas antes de realizar la prueba.

El hisopo de recogida del sistema de medio de transporte BBL™ CultureSwab™ Liquid Amies debe analizarse siguiendo las instrucciones paso a paso que se muestran en la pantalla del instrumento. Si no es posible realizar el análisis inmediatamente, puede conservar el sistema del medio de transporte a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) o refrigerado a 2-8 °C hasta seis (6) horas antes de la prueba.

PROCEDIMIENTO del TEST

Antes de realizar una prueba con ID NOW Strep A 2:

- Deje que todas las muestras alcancen la temperatura ambiente.
- Deje que todas las piezas de la prueba alcancen la temperatura ambiente.
- Compruebe que hay un gránulo de reactivo visible en la parte inferior de cada uno de los tubos de reacción antes de insertar la base de prueba en el ID NOW Instrument. No utilice la base de prueba si no puede ver gránulos en la parte inferior de cada tubo de reacción.

Ejecución de la prueba:

1. Siga las instrucciones paso a paso que se muestran en la pantalla del instrumento.

***Nota**: si se analiza un hisopo transportado en un medio, el hisopo de recogida debe analizarse siguiendo las instrucciones paso a paso que se muestran en la pantalla del instrumento.*

***Nota**: las condiciones ambientales óptimas para ID NOW Strep A 2 son: 15-30 °C de temperatura y 10-80 % de humedad relativa.*

Paso 1

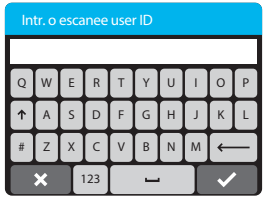
Encienda el ID NOW Instrument: pulse el botón de alimentación ⏻ situado a un lado del instrumento.



***Nota**: si la unidad está inactiva durante una hora, el instrumento cambiará al modo de ahorro de energía y la pantalla quedará en negro. Toque la pantalla para que la unidad vuelva a activar la pantalla.*

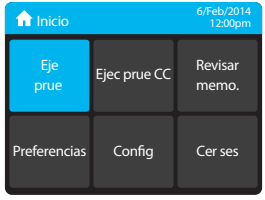
Introduzca el ID del usuario

Pulse "✔" tras la introducción.



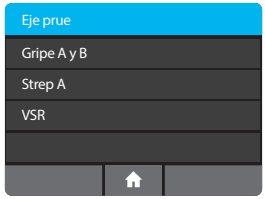
Toque "Eje prue"

De este modo comenzará el proceso de análisis.



Toque "Strep A"

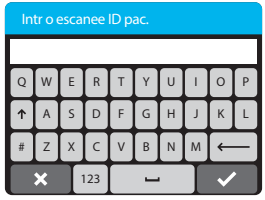
De este modo se inicia la prueba Strep A.



Introduzca el ID del paciente mediante el teclado en pantalla o el escáner de códigos de barras

Toque "✔".

Verifique que el ID se haya introducido correctamente y, a continuación, toque "✔" para confirmarlo.



Paso 2

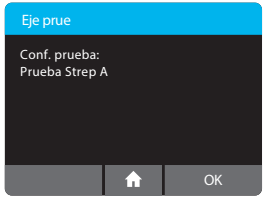
Abra la tapa e inserte la base de prueba naranja en el soporte para dicha base.



⚠ **Precaución: no ejerza demasiada fuerza. Una fuerza excesiva podría dañar el instrumento.**

Confirme que se muestra la prueba correcta en la pantalla.

Toque “OK” para continuar.



⚠ **Precaución: una vez colocada la base de prueba en su soporte, el usuario dispone de 10 minutos para confirmar la prueba. Si la prueba no se confirma antes de 10 minutos, el instrumento se desconectará automáticamente y la base de prueba deberá retirarse y desecharse.**

Si se ha insertado una base de prueba incorrecta, retire y deseche dicha base. Cierre la tapa. El instrumento ejecutará a continuación una autocomprobación antes de pasar a la pantalla de inicio. Pulse Eje prue y reinicie la prueba con la base de prueba correcta.

Paso 3

Inserte el receptor de muestra azul en el soporte de dicho receptor.



⚠ **Precaución: no ejerza demasiada fuerza. Una fuerza excesiva podría dañar el instrumento.**

⚠ **Precaución: confirme que la bolsa de papel de aluminio del receptor de muestra indica ID NOW Strep A 2 (no otro ensayo ID NOW). Confirme que el precinto de papel de aluminio del receptor de muestra indica que es para el ensayo Strep A. En caso contrario, retire el receptor de muestra y reemplácelo por un nuevo receptor de muestra para ID NOW Strep A 2.**

⚠ **Precaución: una vez colocado el receptor de muestra en su soporte, el usuario dispone de 10 minutos para iniciar la prueba (pasos 3 a 5). Si la prueba no se inicia antes de 10 minutos, el instrumento se desconectará automáticamente y todas las piezas de la prueba (base de prueba y receptor de muestra) deberán retirarse y desecharse. El instrumento pasará a la pantalla de inicio. Pulse Eje prue y reinicie la prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

Paso 4

Cuando se solicite, retire el precinto de papel de aluminio y coloque el hisopo del paciente que desea analizar en el receptor de muestra.

⚠ **Precaución: para garantizar que el receptor de muestra permanece en el instrumento mientras se retira el precinto de papel de aluminio, ponga dos dedos a lo largo del borde externo del receptor de muestra para mantenerlo en su lugar. Si el receptor de muestra rebosa después del calentamiento, cancele la prueba pulsando el botón Inicio. Retire y deseche las piezas de la prueba (receptor de muestra y base de prueba) y limpie el instrumento. Pulse Eje prue para iniciar una nueva prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**



Agite enérgicamente el hisopo en el líquido durante 10 segundos. Presione la cabeza del hisopo contra el lateral del receptor de muestra mientras lo agita. Esto ayuda a extraer la muestra del hisopo. Una vez retirado el hisopo, toque "OK" para continuar.

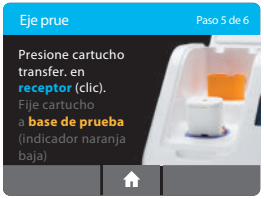
Deseche el hisopo.



Paso 5a

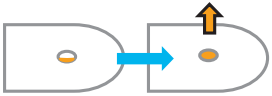
Presione el cartucho de transferencia blanco en el interior del receptor de muestra azul.

Presione hasta que oiga un clic.



Cuando el cartucho de transferencia está correctamente conectado al receptor de muestra, el indicador naranja del cartucho de transferencia se eleva. Si el indicador naranja no se eleva, continúe presionando sobre el receptor de muestra hasta que lo haga.

⚠ **Precaución: debe observarse el indicador naranja muy atentamente. Si el indicador naranja no se eleva completamente, el cartucho de transferencia no podrá tomar suficiente muestra, lo que puede generar resultados de prueba no válidos o falsos.**



Paso 5b

Levante y, a continuación, conecte el cartucho de transferencia a la base de prueba.



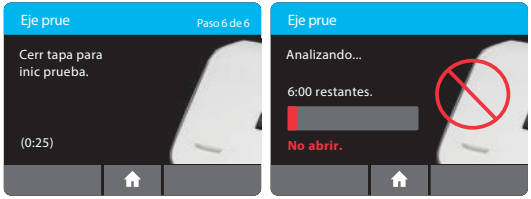
Cuando el cartucho de transferencia está correctamente acoplado a la base de prueba, el indicador naranja del cartucho de transferencia desciende. Si el indicador naranja no desciende, continúe presionando sobre la base de prueba hasta que lo haga.

⚠ **Precaución: Si el indicador naranja no desciende completamente, no se dispensará suficiente muestra. Esto puede generar resultados de prueba no válidos.**



Paso 6

Cierre la tapa.



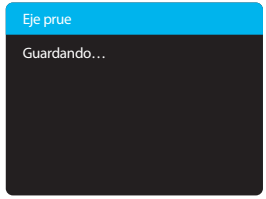
NO ABRA LA TAPA hasta que aparezca el mensaje indicando que la prueba ha finalizado en la pantalla.

***Nota**: la prueba se cancelará si se abre la tapa.*

⚠ **Precaución: esta pantalla se mostrará durante un máximo de 30 segundos una vez detectado el cartucho de transferencia. Si para entonces el instrumento no detecta que se ha cerrado la tapa, se desconectará automáticamente y todas las piezas de la prueba (receptor de muestra, base de prueba y cartucho de transferencia) deberán retirarse y desecharse. El instrumento pasará a la pantalla de inicio. Recoja una nueva muestra del paciente. Pulse Eje prue y reinicie la prueba usando una base de prueba y un receptor de muestra nuevos.**

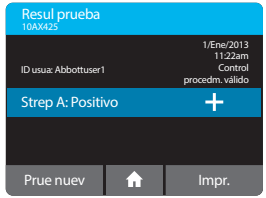
⚠ **Precaución: NO ABRA LA TAPA. La prueba se cancelará y todas las piezas de la prueba (receptor de muestra, base de prueba y cartucho de transferencia) deberán retirarse y desecharse. No se notificará el resultado de la prueba ni se guardará en la memoria del instrumento.**

Cuando se completen la amplificación y detección, el instrumento guardará automáticamente los datos antes de pasar a la pantalla de resultados.



⚠ **Precaución: la prueba no se guardará hasta que se muestren los resultados completos. No abra la tapa hasta que se muestren los resultados.**

Si la prueba se completa con éxito, la pantalla **Resul prueb** mostrará un resultado positivo o negativo. Si se produce un error en la prueba, en la pantalla se leerá “Inval”. Consulte la sección Interpretación del resultado para obtener información sobre la interpretación de resultados.



Pulse Impr. para imprimir los resultados de la prueba. Pulse Prue Nuev para realizar otra prueba. Pulse Inicio para volver a la pantalla de inicio.

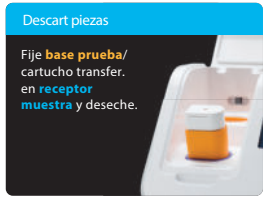
Después de imprimir, o si selecciona Prue nuev o Inicio, el instrumento le indicará que debe abrir la tapa y desechar las piezas de la prueba.



Retire las piezas de la prueba. Para ello, levante el cartucho de transferencia acoplado a la base de prueba y encájelo con un clic en el receptor de muestra, presionándolo hacia el interior del receptor.

⚠ **Precaución: no intente retirar el receptor de muestra de ningún otro modo, ya que existe el riesgo de que rebose la muestra del paciente.**

Todas las piezas de la prueba estarán conectadas y ahora se podrán retirar del instrumento y desechar de conformidad con las normas federales, estatales y locales.



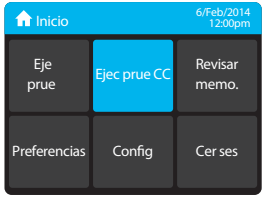
⚠ **Precaución: NO desmonte el cartucho de transferencia ni la base de prueba antes de desecharlos.**

Cierre la tapa. El instrumento volverá a realizar una autocomprobación antes de mostrar la pantalla de inicio o la pantalla de introducción de ID del paciente, en función de la selección anterior.

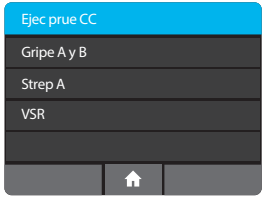


Procedimiento de la prueba para hisopos de control de la calidad:
Si se trata de una prueba de CC, seleccione Ejec prue CC en la pantalla de inicio y siga las instrucciones que se muestran. Consulte el apartado Realización de una prueba de CC en el Manual del usuario del ID NOW Instrument para obtener más información.

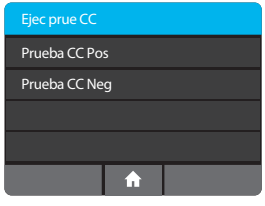
1. Toque "Ejec prue CC"



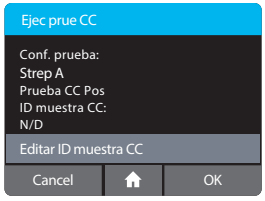
2. Toque "Strep A"



3. Seleccione la prueba de CC que desea realizar



4. Confirme la prueba



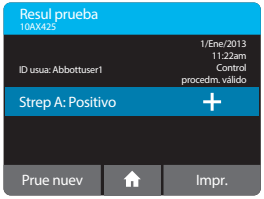
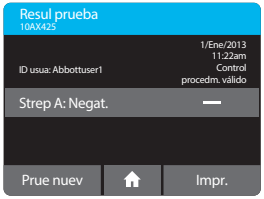
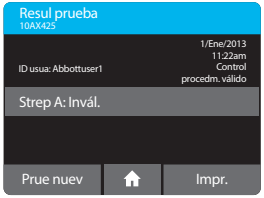
Pulse "OK" para confirmar que el tipo de prueba coincide con la muestra del CC que desea analizar y siga las indicaciones que aparecen en pantalla para realizar la prueba.

El usuario puede introducir un ID de la muestra de CC que se está analizando.

***Nota**: la prueba de CC se realiza de la misma forma que la prueba de un paciente. Consulte la sección anterior **Ejecución de la prueba** para ver las instrucciones paso a paso.*

INTERPRETACIÓN del RESULTADO

Cuando la prueba se haya completado, los resultados se visualizarán claramente en la pantalla del instrumento.

Pantalla del instrumento	Sugerencia de notificación
	**Positivo para ácido nucleico del estreptococo A.**
	**Negativo para ácido nucleico del estreptococo A.**
	**No válido.** Repita inmediatamente el análisis de la muestra usando nuevos componentes de prueba. Si obtiene repetidamente resultados no válidos, repita la prueba con una muestra del paciente nueva y con nuevos componentes de la prueba.

Si se obtiene un resultado no válido, se puede realizar una prueba adicional con el mismo receptor de muestra. Se deben seguir las instrucciones siguientes:

- Retire la base de prueba y el cartucho de transferencia conectados del instrumento y conecte la parte de la base de prueba a un receptor de muestra SIN USAR. La base de prueba y el cartucho de transferencia conectados DEBEN conectarse a un receptor de muestra antes de su eliminación. Puede usar el receptor de muestra de un paquete de cartucho de transferencia nuevo para este fin.
- Extraiga el receptor de muestra azul por separado y con cuidado del instrumento. El receptor de muestra debe mantenerse en posición vertical para evitar que se derrame el contenido líquido.
- Inicie una nueva prueba desde la pantalla de inicio. Siga las indicaciones de la pantalla; sin embargo, cuando se le pida que inserte el receptor de la muestra, utilice el receptor de la muestra anterior y NO vuelva a eluir el hisopo.

LIMITACIONES

- Para lograr un rendimiento óptimo, utilice los hisopos de recogida de muestras que se proporcionan con el kit de prueba. Los estudios analíticos han demostrado que los hisopos de rayón y BBL CultureSwab Liquid Stuart Medium no son adecuados para su uso con este ensayo y pueden producir resultados negativos falsos.
- ID NOW Strep A 2 no distingue entre organismos viables y no viables.
- No se ha establecido el rendimiento de la prueba ID NOW Strep A 2 para monitorizar el tratamiento de la faringitis causada por el estreptococo del grupo A.
- ID NOW Strep A 2 no diferenciará a los portadores asintomáticos del estreptococo del grupo A de los que presenten infección estreptocócica.
- Se pueden producir resultados falsos si se usa un receptor de muestra para un ensayo distinto a ID NOW Strep A 2.
- Se requieren pruebas de seguimiento adicionales con el método de cultivo si el resultado es negativo y persisten los síntomas clínicos, o en caso de un brote de fiebre reumática aguda (FRA).

VALORES PREVISTOS

La incidencia global del estreptococo del grupo A en pacientes analizados durante el estudio clínico de 2017 fue del 20,2 % (198/981) según la determinación del procedimiento de cultivo de referencia y del 25,2 % (247/981) según ID NOW Strep A 2.

CARACTERÍSTICAS de FUNCIONAMIENTO

Estudio clínico

El rendimiento clínico de la prueba ID NOW Strep A 2 fue establecido en un estudio clínico prospectivo multicéntrico realizado en 9 centros de pruebas de EE. UU. en 2017.

Se evaluó con ID NOW Strep A 2 un total de 981 muestras de hisopos faríngeos obtenidos de pacientes de todas las edades que presentaban síntomas similares a la faringitis y se compararon con el cultivo vírico. 53 (5,4 %) de los pacientes analizados tenía ≤ 3 años de edad, 425 (43,3 %) tenían 3-12 años de edad, 200 (20,4 %) tenían 13–20 años de edad y 303 (30,9 %) tenían > 20 años de edad.

La población de estudio incluyó a 582 (59,3 %) mujeres y 399 (40,7 %) hombres. No se observaron diferencias en el rendimiento en función de la edad o el sexo.

En este estudio, se obtuvieron dos (2) hisopos faríngeos de cada uno de los 981 pacientes evaluables. Se analizó un hisopo faríngeo de cada paciente con ID NOW Strep A 2. El otro hisopo faríngeo fue enviado a un laboratorio central para realizar un cultivo bacteriano.

Abajo se indica el rendimiento de ID NOW Strep A 2, incluyendo los intervalos de confianza del 95 %, frente al cultivo bacteriano.

Rendimiento de ID NOW™ Strep A 2 frente a cultivo

	Cultivo +	Cultivo -	
ID NOW™ +	195	52[a]	247
ID NOW™ -	3[b]	731	734
	198	783	981

Sensibilidad: 195/198 = 98,5 % (95 % IC = 95,6 %, 99,5 %)

Especificidad: 731/783 = 93,4 % (IC 95 % = 91,4 %, 94,9 %)

Valor predictivo positivo = 195/247 = 78,9 % (IC 95 % = 74,3 %, 83,6 %)

Valor predictivo negativo = 731/734 = 99,6 % (95 % IC = 98,3 %, 99,9 %)

Prevalencia: 198/981 = 20,2 % (IC 95 % = 17,8 %, 22,8 %)

[a] De las 52 muestras positivas por ID NOW Strep A 2 y negativas por cultivo bacteriano, 38 también fueron positivas para el estreptococo del grupo A por un ensayo PCR en tiempo real desarrollado por un laboratorio.

[b] De las 3 muestras negativas por ID NOW Strep A 2 y positivas por cultivo bacteriano, 1 muestra fue también negativa para el estreptococo del grupo A por un ensayo PCR en tiempo real desarrollado por un laboratorio.

Durante el estudio clínico prospectivo, la tasa inicial de resultados no válidos (antes de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto) fue de 0,9 % (9/985) (IC del 95 %: 0,5 %, 1,7 %). Después de repetir la prueba de acuerdo con las instrucciones del producto, la tasa de no válidos fue del 0,4 % (4/985) (IC del 95 %: 0,2 %, 1,0 %).

ESTUDIOS ANALÍTICOS

Reproducibilidad

Operadores de tres centros realizaron un estudio de reproducibilidad de ID NOW Strep A 2 utilizando paneles de muestras ciegas que contenían muestras bacterianas del estreptococo del grupo A negativas, positivas bajas (aproximadamente 2 veces el límite de detección) y positivas moderadas (aproximadamente 3 veces el límite de detección). Los participantes analizaron varias muestras de cada miembro del panel en 5 días diferentes.

El porcentaje de coincidencia con los resultados previstos para las muestras positivas moderadas y positivas bajas del estreptococo de tipo A fue del 100 % (90/90) para ambas. Se obtuvieron resultados negativos en todas las muestras negativas (90). No existieron diferencias significativas en una misma secuencia (réplicas analizadas por un operador), entre secuencias (5 días diferentes), entre centros (3 centros), o entre operadores (9 operadores).

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección de ID NOW Strep A 2 (LOD o C_{95}), definido como la concentración de estreptococos del grupo A que produce resultados positivos en ID NOW Strep A 2 en aproximadamente el 95 % de los casos, fue identificado mediante la evaluación de concentraciones diferentes de estreptococos del grupo A en ID NOW Strep A 2. Las concentraciones identificadas como el nivel de LOD (o C_{95}) de cada cepa analizada se indican en la tabla siguiente.

Cepa de estreptococo del grupo A	Concentración (células/ml de tampón de elución)[1]	% detectado
ATCC 12344	147	100 %
ATCC 19615	25	95 %

[1] Según lo determinado por la correlación de la densidad óptica de las reservas de células con recuentos de cámara de microscopía

Reactividad analítica

Se analizaron las siguientes cepas de estreptococo del grupo A y produjeron resultados positivos en o cerca del límite de detección del ensayo indicado de la prueba ID NOW Strep A 2: ATCC8135, ATCC12384, ATCC12202, ATCC12203, ATCC12204, ATCC12365, ATCC14289, ATCC49399, ATCC51339, ATCC700294, ATCC12357, ATCC12385 Loomis, ATCC 12385 tipo 4 y Z018.

Especificidad analítica (reactividad cruzada)

Para determinar la especificidad analítica de ID NOW Strep A 2, se probaron 34 microorganismos comensales patógenos (33 bacterias y 1 hongo) que pueden estar presentes en la faringe. Todos los microorganismos y hongos que se describen a continuación ofrecieron resultados negativos cuando se analizaron a una concentración mínima de 2,00 x 10^6 células/ml de tampón de elución.

Bacterias
Arcanobacterium haemolyticum
Bacillus cereus
Bordetella pertussis
Burkholderia cepacia
Campylobacter rectus
Corynebacterium diphtheriae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Fusobacterium necrophorum
Haemophilus influenzae
Klebsiella pneumoniae
Lactobacillus acidophilus
Moraxella catarrhalis
Neisseria gonorrhoeae

Bacterias
Peptostreptococcaceae
Prevotella oralis
Pseudomonas aeruginosa
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Streptococcus agalactiae
Streptococcus aginosus
Streptococcus canis
Streptococcus constellatus subsp. *pharyngis*
Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis*
Streptococcus gallolyticus
Streptococcus intermedius
Streptococcus mitis
Streptococcus mutans
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus salivarius
Streptococcus sanguinis
Treponema denticola
Veillonella parvula
Hongo
Candida albicans

Además, se realizó un análisis *in silico* para determinar si hay alguna homología significativa entre la secuencia del ácido nucleico diana de ID NOW Strep A 2 y los genomas de los siguientes microorganismos de las vías respiratorias altas. Ninguno de los organismos conservó una secuencia genómica que fuera significativamente similar a las secuencias diana de ID NOW Strep A 2.

Bacterias	**Virus**
Enterococcus spp.	Adenovirus tipo 1
Klebsiella spp.	Adenovirus tipo 7
Lactococcus lactis	Virus de la gripe A humana
Legionella spp.	Virus de la gripe B humana
Mycoplasma pneumoniae	Parainfluenza humano
Pseudomonas spp.	Metapneumovirus humano
Saccharomyces cerevisiae	Virus sincicial respiratorio tipo B
Stenotrophomonas maltophilia	Rinovirus
Hongo	
Candida spp	

Sustancias que producen interferencias

Las sustancias siguientes, presentes de forma natural en las muestras del hisopo faríngeo o que pueden ser artificialmente introducidas dentro de la faringe, se evaluaron con la prueba ID NOW Strep A 2 en las concentraciones que se indican a continuación, y se halló que no afectaban el rendimiento de la prueba.

Sustancia	Concentración
Sangre completa	5,0 % (v/v)
Mucina	1,0 % (w/v)[1]
Saliva humana	5,0 % (v/v)[2]
Ibuprofeno	20 mg/ml
Paracetamol	60,4 mg/ml
Ácido acetilsalicílico	0,65 mg/ml
Salbutamol	0,40 mg/ml
Difenhidramina HCL	1,0 mg/ml
Pastillas para la irritación de garganta Cepacol®	20 % (w/v)
Pastillas para la irritación de garganta y la tos Sucrets®	20 % (w/v)
Halls Plus®	20 % (w/v)
ACT® Total Care	20 % (v/v)
Colutorio Cepacol®	20 % (v/v)
Colutorio antiséptico Listerine®	10 % (v/v)[3]
Dentrífico Crest® total blanqueamiento y limpieza profunda	20 % (w/v)
Nebulizador oral Zicam®	20 % (v/v)
Chloraseptic® alivio máximo de garganta y acción protectora	20 % (v/v)
Comprimidos Contact para resfriado y fiebre	20 % (w/v)
Robitussin® máxima potencia, tos nocturna DM	20 % (v/v)
Tylenol® para todos los síntomas del resfriado, líquido	20 % (v/v)
Dimetapp® para tos y resfriado, infantil	20 % (v/v)

[1] 1/3 réplicas a 2 % v/v de mucina produjeron un resultado falso negativo
[2] 1/3 réplicas a 10 % v/v de saliva produjeron un resultado falso negativo
[3] 1/3 réplicas al 20 % v/v de colutorio antiséptico Listerine produjeron un resultado falso positivo

Estudios de exención de CLIA

Se usaron los mismos datos del estudio prospectivo descrito en la sección Características de rendimiento anterior para determinar la precisión de ID NOW Strep A 2. Las pruebas fueron realizadas por operadores sin experiencia en el laboratorio, representativos de los usuarios previstos en los centros de análisis exentos de CLIA. En este estudio, la prueba fue realizada por 34 usuarios en nueve (9) centros de estudio representativos de centros exentos de CLIA. No se proporcionó formación sobre el uso de la prueba a los operadores.

En total se analizaron 981 muestras de hisopos faríngeos con ID NOW Strep A 2, y los resultados se compararon con los del cultivo bacteriano. El rendimiento de ID NOW Strep A 2 para todas las muestras combinadas se presenta en la sección del estudio clínico anterior.

Se realizó un estudio para evaluar el rendimiento de ID NOW Strep A 2 con muestras débilmente reactivas analizadas por usuarios sin formación. Se analizaron paneles ciegos aleatorizados que contenían muestras negativas o poco positivas (cercanas al límite de detección {LOD} o corte del ensayo) con ID NOW Strep A 2 en 3 centros representativos de centros exentos de CLIA (120 pruebas en total). Seis usuarios sin formación participaron en el estudio. Los análisis se realizaron durante un mínimo de 6 días en cada centro, y se integraron en el flujo de trabajo diario de los usuarios. El rendimiento de ID NOW Strep A 2 en manos de los usuarios sin formación con muestras negativas y muestras cercanas al corte del ensayo fue aceptable, según se aprecia en la tabla siguiente.

Análisis con ID NOW™ Strep A 2 de muestras cercanas al corte del ensayo (LOD)

Tipo de muestra	% de detección	IC del 95 %
Poco positivo en estreptococo A (C_{95})	98,3 % (59/60)	91,1 %, 99,7 %
Negativo verdadero	0 % (0/60)	0 %, 6,0 %

Se llevaron a cabo estudios analíticos flexibles en ID NOW Strep A 2 utilizando el análisis de riesgo como guía. Los estudios demostraron que la prueba no es sensible a las presiones de las condiciones medioambientales y los posibles errores de los usuarios.

SÍMBOLOS

 Frágil, manipular con cuidado	BASE Base de prueba
CARTRDG Cartucho de transferencia	RCVR Receptor de muestra
℞ Only Solo por prescripción (aplicable a EE. UU. exclusivamente)	⚠ Precaución, consulte la documentación adjunta.

INFORMACIÓN de CONTACTO y SOLICITUDES

Números para reposiciones:

734-000: ID NOW Strep A 2 - 24 Test Kit [Kit de análisis]

734-080: ID NOW Strep A 2 Control Swab Kit [Kit de hisopo de control]

EE. UU. +1 877 441 7440
Fuera de EE. UU. +1 321 441 7200

Línea de asistencia técnica
Puede obtener más información a través de su distribuidor o poniéndose en contacto con el servicio de asistencia técnica:

EE. UU.
+1 855 731 2288 ts.scr@abbott.com

África, Rusia, CEI
+44 161 483 9032 EMEproductsupport@abbott.com

Asia y Océano Pacífico
+61 7 3363 7711 APproductsupport@abbott.com

Canadá
+1 800 818 8335 CANproductsupport@abbott.com

Europa y Oriente Medio
+44 161 483 9032 EMEproductsupport@abbott.com

Latinoamérica
+57 (1) 4824033 LAproductsupport@abbott.com

REFERENCIAS

1. Shulman et al., Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis: 2012 Update by the Infectious Diseases Society of America (2012).
2. American Academy of Pediatrics. Red Book: 2012 Report of the Committee on Infectious Diseases. Pickering LK, ed. 29th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2012. US Department of Health and Human Services PHS/CDC/NIH. Biosafety in microbiology and biomedical laboratories, Washington DC: US Government Printing Office, 2007.
3. Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition, Vol. 1, ASM. (2015) pg. 279.

Abbott

Abbott Diagnostics Scarborough, Inc.
10 Southgate Road
Scarborough, Maine 04074 USA
www.abbott.com/poct

CE IVD

© 2020 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

Software © 2020 Axxin, used under license.
All trademarks referenced are trademarks of their respective owners.
This product is licensed and sold under agreement with Biosearch Technologies, Inc.
This product is sold under license from PHRI Properties and may be used under PHRI Properties patent rights only for human *in vitro* diagnostics.

IN734000es Rev.5 2020/05

Abbott
ID NOW
Strep A 2

PI, ES

Size:

8.5 in x 5.5 in

Printed Colors



CMYK

Incoming Inspection Colors
(For Reference Only)
Colors below are not used for printing



PMS 2995 U
Primary Blue

PMS 354 U
Med Green

PMS 303 U
Dark Blue

PN: IN734000es
Rev: 5

Date of Last Revision:
5.2 2020/05/20

Abbott

ID NOW™

COVID-19

PROSPECTO DEL PRODUCTO

ID NOW™
COVID-19
PROSPECTO DEL PRODUCTO

Para uso con el ID NOW™ Instrument
Para uso con muestras nasales, faríngeas o nasofaríngeas
Solo para uso *in vitro*

INDICACIONES

El ensayo ID NOW COVID-19 realizado en el ID NOW Instrument es una prueba diagnóstica molecular rápida *in vitro* que utiliza una tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos destinada a la detección cualitativa de ácido nucleico del ARN viral de SARS-CoV-2 en hisopos directos nasales, nasofaríngeos o faríngeos de individuos con presunta infección por COVID-19 según diagnóstico de su médico.

Los resultados se corresponden con la identificación del ARN del SARS-CoV-2. El SARS-CoV-2RNA es generalmente detectable en muestras respiratorias durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos son indicativos de la presencia de ARN del SARS-CoV-2; se necesitan la correlación clínica con la anamnesis y otra información de diagnóstico del paciente para determinar el estado de infección del paciente. Los resultados positivos no descartan la infección bacteriana ni la coinfección con otros virus.

Los resultados negativos deben considerarse presuntos y, si son incoherentes con los signos y síntomas clínicos o son necesarios para el tratamiento del paciente, deben analizarse con diferentes pruebas moleculares autorizadas o aprobadas. Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2 y no deben usarse como el único criterio para las decisiones de tratamiento del paciente. Los resultados negativos se deben considerar en el contexto de las exposiciones recientes del paciente, la anamnesis y la presencia de signos y síntomas clínicos coherentes con la COVID-19.

La prueba ID NOW COVID-19 está indicada para que la utilicen profesionales médicos u operadores capacitados que sean competentes en la realización de pruebas con el ID NOW Instrument.

RESUMEN y EXPLICACIÓN de la PRUEBA

Los coronavirus son una gran familia de virus que pueden causar enfermedades en animales o humanos. El SARS-CoV-2 es un virus de ARN encapsulado y monocatenario del género ß. El virus puede causar enfermedades respiratorias de leves a graves y se ha propagado por todo el mundo, incluidos los Estados Unidos.

ID NOW COVID-19 es una prueba isotérmica rápida (13 minutos o menos) basada en instrumento para la detección cualitativa y el diagnóstico del SARS-CoV-2 a partir de hisopos nasales, nasofaríngeos y faríngeos. El ID NOW Instrument tiene unas dimensiones reducidas y una interfaz gráfica de usuario fácil de usar para ofrecer una mayor comodidad dentro de un hospital de intensa actividad o en instalaciones de pruebas cerca de los pacientes. El kit ID NOW COVID-19 contiene todos los componentes necesarios para llevar a cabo un ensayo de SARS-CoV-2 en el ID NOW Instrument.

PRINCIPIOS del PROCEDIMIENTO

ID NOW COVID-19 es un ensayo automatizado que utiliza tecnología de amplificación de ácidos nucleicos isotérmica para la detección cualitativa de ácidos nucleicos virales del SARS-CoV-2. Se compone de un receptor de muestras, que contiene un tampón de elución/lisis, una base de prueba, que consta de dos tubos de reacción sellados (cada uno con un sedimento liofilizado), un cartucho de transferencia para transferir la muestra eluida a la base de prueba y el ID NOW Instrument.

Los tubos de reacción en la base de prueba contienen los reactivos necesarios para la amplificación del SARS-CoV-2, así como un control interno. Las plantillas (similares a los cebadores), diseñadas para dirigirse al ARN del SARS-CoV-2, amplifican una región única del segmento RdRp. Las balizas moleculares con marcadores fluorescentes se utilizan para identificar específicamente cada una de las dianas de ARN amplificadas.

Para realizar el ensayo, el receptor de muestras y la base de prueba se introducen en el ID NOW Instrument. La muestra se agrega al receptor de muestras y se transfiere a través del cartucho de transferencia a la base de prueba, iniciando la amplificación de la diana. El instrumento realiza el calentamiento, la mezcla y la detección.

REACTIVOS y MATERIALES

Materiales suministrados

BASE	**Bases de prueba:** Componentes de plástico naranja que contienen dos tubos de reacción de reactivos liofilizados para la amplificación dirigida del ARN viral de SARS-CoV-2 y un control interno.
RCVR	**Receptores de muestras:** Componentes de plástico azul que contienen 2,5 ml de tampón de elución.
CARTRDG	**Cartuchos de transferencia:** Componentes de plástico blanco que se utilizan para transferir 2 x 100 µL de extracto de muestra del receptor de muestras a la base de prueba.

Hisopos de paciente: Hisopos estériles (de espuma) para utilizar con la prueba ID NOW COVID-19.

Hisopo de control positivo: El hisopo de control positivo asegura que la elución/lisis de la muestra y el flujo de trabajo se hayan realizado correctamente.

Prospecto

Instrucciones de consulta rápida

Materiales necesarios pero no suministrados

ID NOW Instrument

Hisopos nasofaríngeos

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Para utilizarse junto con el ID NOW Instrument.
3. Trate todas las muestras como potencialmente infecciosas. Siga las precauciones universales al manipular muestras, este kit y su contenido.
4. La recogida, el almacenamiento y el transporte adecuados de la muestra son esenciales para obtener resultados correctos.
5. Deje los componentes de prueba sellados en sus bolsas de aluminio hasta justo antes de su uso.
6. No manipule los componentes de prueba antes o después de su uso.
7. No utilice el kit después de su fecha de caducidad.
8. No mezcle componentes de diferentes lotes de kits o de otros ensayos ID NOW.
9. Las soluciones utilizadas para hacer el hisopo de control positivo se inactivan utilizando métodos estándar. Sin embargo, las muestras de pacientes, los controles y los componentes de prueba deben manipularse como si pudieran transmitir enfermedades. Cumpla las precauciones establecidas contra los riesgos microbianos durante el uso y la eliminación.
10. Use guantes y equipos de protección personal limpios cuando realice cada prueba. Cámbiese los guantes después de manipular muestras que puedan estar infectadas con COVID-19.
11. **Si alguno de los componentes del ensayo se cae, se agrieta, se descubre que está dañado o está abierto cuando se recibe, NO LO USE y deséchelo. No use tijeras ni objetos afilados para abrir las bolsas de aluminio, ya que pueden dañarse los componentes de prueba.**
12. No abra el receptor de muestras antes de colocarlo en el instrumento. Si lo hace, se impedirá que el tampón de elución alcance la temperatura y puede afectar el rendimiento de la prueba.
13. Si se derrama el receptor de muestras al abrirlo, limpie el instrumento según las instrucciones suministradas en el Manual del usuario del instrumento y cancele la prueba. Repita la prueba con un nuevo receptor de muestras.
14. Todos los componentes de prueba deben retirarse del instrumento de acuerdo con las instrucciones de extracción que se indican en el instrumento y eliminarse de acuerdo con los requisitos locales y nacionales. **Los componentes no deben separarse una vez ensamblados**.
15. Todos los componentes de prueba son de un solo uso. No los utilice con varias muestras.
16. Una vez que haya reaccionado la base de prueba, incluirá grandes cantidades de diana amplificada (amplicón). **No desmonte la base de prueba y el cartucho de transferencia**. Si lo hace, podría dar lugar a la fuga de amplicón y resultados falsos positivos en la prueba ID NOW COVID-19 en el caso de una muestra positiva.

17. A baja frecuencia, las muestras clínicas pueden contener inhibidores que pueden generar resultados no válidos. Las tasas no válidas de un sitio a otro pueden variar.
18. Debido a la alta sensibilidad de los ensayos realizados en el instrumento, la contaminación del área de trabajo con muestras positivas anteriores puede causar resultados falsos positivos. Manipule las muestras según las prácticas estándar de laboratorio. Limpie los instrumentos y las superficies circundantes de acuerdo con las instrucciones suministradas en la sección de limpieza del Manual del usuario del instrumento. Consulte la sección 1.6, Mantenimiento y limpieza, para obtener más información.

ALMACENAMIENTO y ESTABILIDAD

Guarde el kit a una temperatura entre 2 °C y 30 °C. El kit ID NOW COVID-19 es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el envase exterior y los recipientes. Asegúrese de que todos los componentes de prueba estén a temperatura ambiente antes de su uso.

CONTROL de CALIDAD

La prueba ID NOW COVID-19 incorpora controles de procedimiento. El resultado del control de procedimiento se muestra en la pantalla y se almacena automáticamente en el instrumento con cada resultado de la prueba. Este resultado puede revisarse más tarde seleccionando Revisar memo. en el instrumento.

Controles de procedimiento:

ID NOW COVID-19 ID contiene un control interno que ha sido diseñado para controlar la inhibición de la muestra y la función del reactivo de ensayo. En las muestras positivas donde la amplificación de diana es intensa, el control interno se pasa por alto y la amplificación de diana actúa como el "control" para confirmar que la muestra clínica no era inhibitoria y que el rendimiento del reactivo del ensayo era eficiente. A muy baja frecuencia, las muestras clínicas pueden contener inhibidores que pueden generar resultados no válidos.

El mensaje “Contr. de proced. valido” mostrado en la pantalla del instrumento indica que los reactivos del ensayo mantuvieron su integridad funcional y que la muestra no inhibió significativamente el rendimiento del ensayo.

Controles externos positivos y negativos:

Las buenas prácticas de laboratorio sugieren el uso de controles positivos y negativos para garantizar el funcionamiento de los reactivos de prueba y la realización correcta de la prueba. Los kits ID NOW COVID-19 contienen un hisopo de control positivo e hisopos estériles que se pueden usar como un hisopo de control negativo. Estos hisopos controlarán todo el ensayo. Analice estos hisopos una vez con cada nuevo envío recibido y una vez para cada operador no capacitado. Es posible analizar más controles con el fin de garantizar la conformidad con las normativas locales, regionales o nacionales, los grupos de acreditación o los procedimientos estándar de control de calidad de su laboratorio.

PROCEDIMIENTO de HISOPO de CONTROL

Los controles positivos y negativos deben probarse siguiendo las instrucciones de procesamiento de la prueba de control de calidad en el ID NOW Instrument. En el kit se incluye un hisopo de control positivo. Utilice un hisopo estéril proporcionado con el kit de prueba como hisopo de control negativo. Consulte el Procedimiento de prueba de hisopos de control de calidad o el Manual del usuario del instrumento para obtener más detalles.

Nota: *El ID NOW Instrument notifica los resultados del control de calidad como Superado o No superado.*

Si no se obtienen los resultados de control correctos, no realice pruebas de pacientes ni notifique los resultados del paciente. Póngase en contacto con el Soporte técnico durante el horario comercial habitual antes de analizar muestras de pacientes.

RECOGIDA y MANIPULACIÓN de MUESTRAS

Utilice muestras recién recogidas para garantizar un rendimiento óptimo de la prueba. La recogida inadecuada de muestras o la manipulación/almacenamiento/transporte incorrectos de la muestra pueden dar lugar a resultados erróneos. Consulte las Directrices provisionales de los CDC para la recogida, la manipulación y el análisis de muestras clínicas humanas para la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html

El ID NOW COVID-19 está indicado para el análisis de un hisopo directamente sin elución en medio de transporte vírico, ya que la dilución dará como resultado una detección reducida de muestras positivas bajas que están cerca del límite de detección de la prueba.

Siga las precauciones estándar al manipular muestras clínicas, que pueden contener todas materiales potencialmente infecciosos. Las precauciones estándar incluyen la higiene de las manos y el uso de equipo de protección individual (EPI), como batas o petos de laboratorio, guantes y protección ocular.

Para minimizar el riesgo de contaminación del EPI y el paquete de hisopos durante la recogida de muestras, se recomienda abrir completamente el envase tirando de arriba hacia abajo. Retire con cuidado el hisopo y realice la recogida de muestras.

Hisopo faríngeo

Para un rendimiento óptimo de la prueba, utilice los hisopos suministrados en el kit de prueba. También es posible utilizar hisopos faríngeos de espuma, poliéster, HydraFlock® y nailon para recoger muestras de hisopos faríngeos.

Los hisopos de rayón no son adecuados para su uso en este ensayo.

Recoja la muestra del paciente frotando la faringe posterior, las amígdalas y otras áreas inflamadas. Evite tocar la lengua, las mejillas y los dientes con el hisopo.[1]

Hisopo nasal

Para un rendimiento óptimo de la prueba, utilice los hisopos suministrados en el kit de prueba. También es posible utilizar hisopos flocados de rayón, espuma, HydraFlock® (punta estándar), hisopos flocados HydraFlock® (mini punta), hisopos flocados Copan de mini punta o hisopos flocados Copan estándar para recoger muestras de hisopos nasales.

Los hisopos flocados de punta estándar Ultra Puritan PurFlock, los hisopos flocados de mini punta Puritan PurFlock y los hisopos de punta de rayón estándar Copan no son adecuados para utilizarse en este ensayo.

Para recoger una muestra de hisopo nasal, inserte cuidadosamente el hisopo en la fosa nasal que muestre el drenaje más visible, o la fosa nasal que esté más congestionada si el drenaje no es visible. Aplicando una rotación suave, introduzca el hisopo hasta que se encuentre resistencia al nivel de los cornetes (menos de 2,5 cm en el interior de la fosa nasal). Gire el hisopo varias veces contra la pared nasal y luego sáquelo lentamente. Con el mismo hisopo, repita la recogida de muestras en la otra fosa nasal.

Hisopos nasofaríngeos

Use hisopos nasofaríngeos estériles de rayón, espuma, poliéster o de eje flexible flocado para recoger una muestra nasofaríngea.

Para recoger una muestra de hisopo nasofaríngeo, inserte cuidadosamente el hisopo en la fosa nasal que muestre el drenaje más visible, o la fosa nasal que esté más congestionada si el drenaje no es visible. Pase el hisopo directamente hacia atrás sin inclinar la cabeza del hisopo hacia arriba o hacia abajo. El pasaje nasal discurre paralelo al suelo, no paralelo al puente de la nariz. Aplicando un suave giro, inserte el hisopo en la fosa nasal anterior, paralela al paladar, y haga avanzar el hisopo hacia la nasofaringe. Déjelo colocado unos segundos y luego gire lentamente el hisopo a medida que se retira.

Para garantizar una recogida adecuada, el hisopo debe hacerse pasar una distancia que sea la mitad desde la nariz hasta la punta de la oreja. Esto es aproximadamente la mitad de la longitud del hisopo. **NO FUERCE** la introducción del hisopo. El hisopo debe introducirse suavemente con una resistencia mínima; si se encuentra resistencia, retire el hisopo un poco sin sacarlo de la fosa nasal. Luego eleve la parte posterior del hisopo y muévalo hacia la nasofaringe.

TRANSPORTE y ALMACENAMIENTO de MUESTRAS

Los hisopos nasales, faríngeos o nasofaríngeos directos deben analizarse lo antes posible después de la recogida. Si no es posible realizar una prueba inmediata, el hisopo nasal, faríngeo o nasofaríngeo se puede guardar en su paquete original (o colocarse en un tubo cónico y taparlo herméticamente) a temperatura ambiente (entre 15 ° C y 30 ° C) durante un máximo de dos (2) horas antes de la prueba. Si se mantiene una muestra de hisopo nasal, faríngeo o nasofaríngeo directo durante más de dos (2) horas, debe refrigerarse entre 2 °C y 8 °C y analizarse en un período de 24 horas desde el momento de recogida de la muestra.

Si el hisopo debe transferirse al envase para su transporte, colóquelo cuidadosamente de tal forma que la cabeza del hisopo entre en contacto solamente con la parte inferior del envase. Evite tocar el exterior del envoltorio con el hisopo. Si se prefiere, el hisopo también se puede colocar en un tubo cónico sin recubrimiento para su almacenamiento antes de la prueba. Si coloca el hisopo en un tubo cónico para su almacenamiento o transporte, asegúrese de que quede bien ajustado dentro del tubo y que el tapón esté bien cerrado.

Si van a enviarse las muestras, empaquete y envíe las muestras de pacientes con presunta infección e infección confirmada por SARS-CoV-2 como Sustancia Biológica UN 3373, Categoría B, de acuerdo con la edición actual de la Normativa de mercancías peligrosas de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA).[2] El personal debe recibir capacitación para empaquetar y enviar las muestras de acuerdo con la normativa y de una manera que corresponda a sus responsabilidades con funciones específicas.

PROCEDIMIENTO de PRUEBA

Consulte el Manual del usuario del ID NOW Instrument para obtener instrucciones completas.
Antes de realizar la prueba con el ID NOW COVID-19:

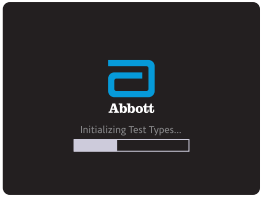
- **Póngase guantes limpios.**
- Deje todas las muestras a temperatura ambiente.
- Deje todos los componentes de prueba a temperatura ambiente.
- Verifique que se vea un gránulo de reactivo en el fondo de los tubos de reacción antes de insertar la base de prueba en el ID NOW Instrument. No utilice la base de prueba si no se ve un gránulo en el fondo de cada tubo de reacción.

Para realizar una prueba:

Paso 1

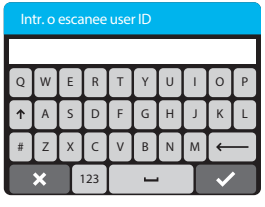
Encienda el ID NOW Instrument: presione el botón de encendido ⏻ en el lateral del instrumento.

Nota: *Si la unidad se deja desatendida durante una hora, el instrumento pasará al modo de ahorro de energía con la pantalla en negro. Toque la pantalla para restablecer la unidad a la visualización activa.*



Introduzca la ID de usuario

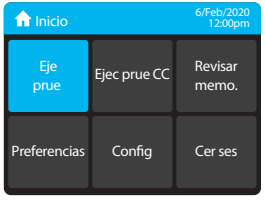
Pulse '✓' después de introducir la ID.



Para realizar una prueba:

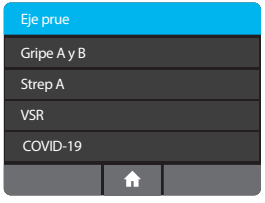
Toque 'Eje prue'

Se iniciará el proceso de prueba.



Toque 'COVID-19'

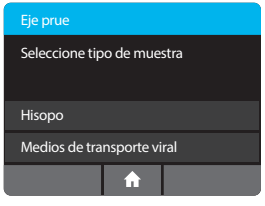
Se inicia una prueba del COVID-19.



Seleccione el tipo de muestra (si se solicita)

Si el administrador ya ha especificado el tipo de muestra, el instrumento avanzará automáticamente al siguiente paso.

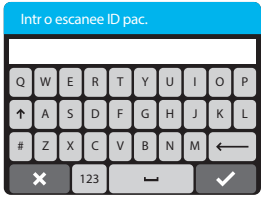
⚠ **Precaución: Las muestras VTM no son un tipo de muestra apropiado para la prueba ID NOW COVID-19.**



Introduzca el ID del paciente con el teclado en pantalla o el escáner de código de barras.

Toque '✓'.

Verifique que la ID se haya ingresado correctamente, y luego toque '✓' para confirmar la introducción.



Para realizar una prueba:

Paso 2

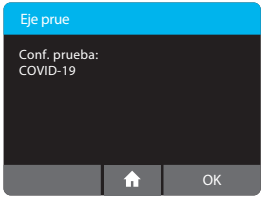
Abra la tapa e inserte la base de prueba naranja en el soporte de la base de prueba naranja





⚠ **Precaución: No aplique una fuerza excesiva. De lo contrario, podría dañar el instrumento.**

Confirme que la prueba correcta se muestre en la pantalla.



Toque 'OK' para continuar.

⚠ **Precaución: Una vez que la Base de prueba se haya colocado en el soporte, el usuario tendrá 10 minutos para confirmar la prueba. Si la prueba no se confirma en un período de los 10 minutos, el instrumento superará el tiempo de espera y la base de prueba deberá retirarse y desecharse.**

Si se ha insertado la base de prueba incorrecta, retire y deseche la base de prueba incorrecta. Cierre la tapa. El instrumento ejecutará una autocomprobación antes de pasar a la pantalla de inicio. Presione Eje prue y reinicie la prueba utilizando la base de prueba correcta.

Para realizar una prueba:

Paso 3

Inserte el receptor de muestras azul en el soporte del receptor de muestras azul



⚠ **Precaución: No aplique una fuerza excesiva. De lo contrario, podría dañar el instrumento.**

⚠ **Precaución: Una vez que el receptor de muestras se haya colocado en el soporte, el usuario tendrá 10 minutos para confirmar la prueba (pasos 3 a 5). Si la prueba no se inicia en un período de los 10 minutos, el instrumento superará el tiempo de espera y los componentes de prueba (base de prueba y receptor de muestras) deberán retirarse y desecharse. El instrumento pasará a la pantalla de inicio. Presione Eje prue y reinicie la prueba utilizando la base de prueba y el receptor de muestras.**

Espere a que se caliente el receptor de muestras. No retire el receptor de muestras del instrumento una vez que comience el calentamiento.



⚠ **Precaución: NO RETIRE EL PRECINTO DE ALUMINIO HASTA QUE EL INSTRUMENTO LO INDIQUE. NO** cierre la tapa o inserte la muestra hasta que el instrumento lo indique.

Para realizar una prueba:

Paso 4

Procedimiento de prueba de hisopos nasales, faríngeos o nasofaríngeos directos

Cuando el sistema lo indique, retire el precinto de aluminio y coloque el hisopo del paciente para analizar en el receptor de muestras.



Mezcle el hisopo en el líquido durante 10 segundos. Esto ayuda a eliminar la muestra del hisopo. Levante el hisopo del líquido y presione la cabeza del hisopo contra el lateral del receptor de muestras para eliminar el exceso de líquido. Una vez que se retire el hisopo, toque 'OK' para continuar.



Deseche el hisopo en un recipiente de desechos biológicos peligrosos.

⚠ **Precaución: Para asegurarse de que el receptor de muestras permanezca en el instrumento mientras retira el precinto de aluminio, coloque dos dedos a lo largo del borde exterior del receptor de muestras para mantenerlo en su sitio. Si el receptor de muestras se derrama después del calentamiento, cancele la prueba con el botón de inicio. Retire y deseche los componentes de prueba (receptor de muestras y base de prueba) y limpie el instrumento. Presione Eje prue para iniciar una nueva prueba con una base de prueba y un receptor de muestras nuevos.**

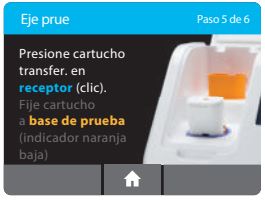
Para realizar una prueba:

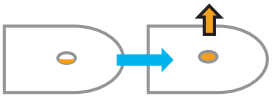
Paso 5a

Coloque el cartucho de transferencia blanco en el receptor de muestras azul y presione

Oirá un 'clic'.

Cuando el cartucho de transferencia está correctamente conectado al receptor de muestras, el indicador naranja del cartucho de transferencia se elevará. Si el indicador naranja no se eleva, siga presionando sobre el receptor de muestras hasta que lo haga.





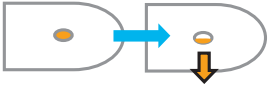
⚠ **Precaución: Debe observarse atentamente el indicador naranja. Si este no se eleva completamente, es posible que el cartucho de transferencia no haya recogido una cantidad suficiente de muestra.**

Paso 5b

Levante y conecte el cartucho de transferencia a la base de prueba

Cuando el cartucho de transferencia está correctamente conectado a la base de prueba, el indicador naranja del cartucho de transferencia descenderá. Si dicho indicador no desciende, siga presionando sobre la base de prueba hasta que lo haga.





⚠ **Precaución: Si el indicador naranja no desciende completamente, no se dispensará una cantidad suficiente de muestra. Esto puede dar lugar a resultados de prueba falsos o no válidos.**

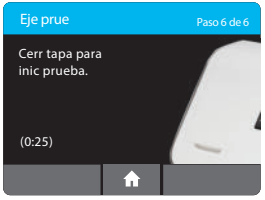
Para realizar una prueba:

Paso 6

Cierre la tapa.

NO ABRA LA TAPA hasta que aparezca el mensaje **Prueba completada** en la pantalla.

Nota: *La prueba se cancelará si se abre la tapa.*

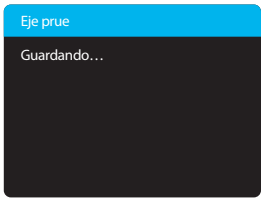




⚠ **Precaución: Esta pantalla se mostrará durante un máximo de 30 segundos una vez que se detecte el cartucho de transferencia. Si el instrumento no detecta que la tapa se ha cerrado una vez transcurrido este período, se agotará el tiempo de espera y todos los componentes de prueba (receptor de muestras, base de prueba y cartucho de transferencia) deben retirarse y desecharse. El instrumento pasará a la pantalla de inicio. Recoja una nueva muestra del paciente. Presione Eje prue y reinicie la prueba utilizando la base de prueba y el receptor de muestras.**

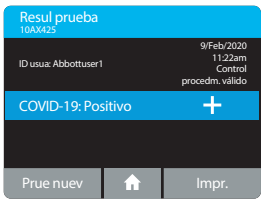
⚠ **Precaución: NO ABRA LA TAPA. La prueba se cancelará, y todos los componentes de prueba (receptor de muestras, base de prueba y cartucho de transferencia) deben retirarse y desecharse. El resultado de la prueba no se notificará ni se almacenará en la memoria del instrumento.**

Cuando hayan finalizado la amplificación y la detección, el instrumento guardará automáticamente los datos antes de pasar a la pantalla de resultados.



⚠ **Precaución: La prueba no se guardará hasta que se haya mostrado el resultado finalizado. No abra la tapa si aún no se muestran los resultados.**

La pantalla **Resul prueba** muestra un resultado negativo o positivo de una prueba finalizada correctamente. Si se produce un error de prueba, la pantalla mostrará 'Inváll.'. Consulte el apartado Interpretación de los resultados para obtener detalles sobre la interpretación de los resultados.



Presione Impr. para imprimir los resultados de la prueba; pulse Prue nuev para realizar otra prueba, o Inicio para volver a la pantalla de inicio

Para realizar una prueba:

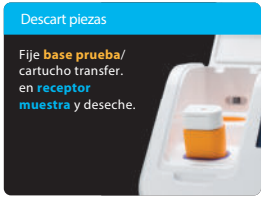
Tras la impresión, o si se selecciona Prue nuev o Inicio, el instrumento le solicitará que abra la tapa y deseche los componentes de prueba usados.



Para retirar los componentes de prueba, levante el cartucho de transferencia conectado a la base de prueba y haga clic en el receptor de muestras presionando el receptor de muestras.

⚠ **Precaución: No intente retirar el receptor de muestras utilizando otro método, pues existe el riesgo de derramar la muestra del paciente.**

Todos los componentes de prueba se conectarán y podrán retirarse ahora del instrumento y eliminarse de acuerdo con la normativa local, regional y nacional.



⚠ **Precaución: NO desmonte el cartucho de transferencia y la base de prueba antes de desecharlos.**

Cierre la tapa. El instrumento ejecutará una autocomprobación antes de mostrar la pantalla de inicio o la pantalla de introducción de ID del paciente, según la opción seleccionada anteriormente.

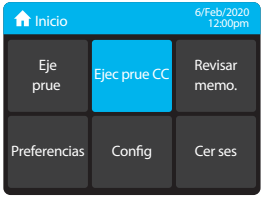


Quítese y deseche los guantes.

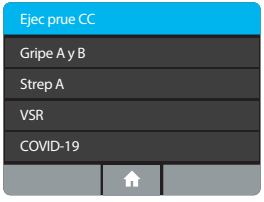
Procedimiento de prueba de hisopos de control de calidad

Para las pruebas de control de calidad, seleccione Ejec prue CC en la pantalla de inicio y siga las instrucciones que se muestran. Consulte el apartado Realización de una prueba de control de calidad en el Manual del usuario del ID NOW Instrument para obtener más detalles.

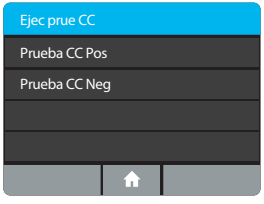
1 Toque 'Ejec prue CC'



2 Toque 'COVID-19'



3 Seleccione la prueba de control de calidad que vaya a procesarse

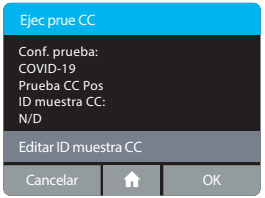


4 Confirme la prueba

Para confirmar que el tipo de prueba coincida con la muestra de control de calidad que va a analizarse, toque 'OK' y siga las instrucciones en pantalla para completar la prueba.

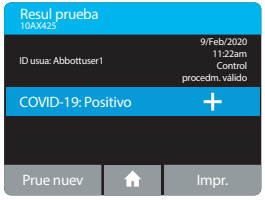
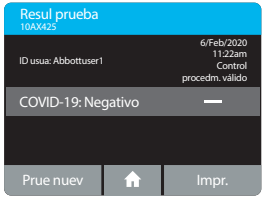
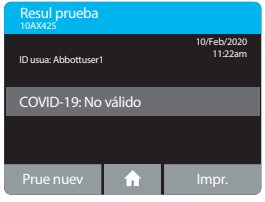
Es posible introducir una ID para la muestra de control de calidad que se está procesando.

Nota: *La prueba de CC se realiza de la misma forma que la prueba de paciente con hisopo nasal/faríngeo/nasofaríngeo directo. Consulte el apartado* ***Realizar una prueba*** *para obtener instrucciones paso a paso para obtener muestras de hisopos nasales/faríngeos/nasofaríngeos directos.*



INTERPRETACIÓN de los RESULTADOS

Cuando haya finalizado la prueba, los resultados se mostrarán claramente en la pantalla del instrumento.

Pantalla del instrumento	Interpretación de resultados y acciones de seguimiento
	**Positivo a COVID-19** Los resultados positivos no descartan la infección bacteriana ni la coinfección con otros virus.
	**Negativo a COVID-19** Los resultados negativos deben considerarse presuntos y, si son incoherentes con los signos y síntomas clínicos o son necesarios para el tratamiento del paciente, deben analizarse con otro ensayo molecular. Un resultado negativo no descarta coinfecciones con otros patógenos.
	**No se puede determinar la presencia o ausencia de ARN vírico de COVID-19.** Repita el análisis de la muestra utilizando nuevos componentes de prueba. Si se obtienen resultados no válidos repetidamente, los resultados deben ser confirmados por otro método antes de notificar los resultados.

Si se recibe un resultado no válido, puede realizarse otra prueba adicional utilizando el mismo receptor de muestras. Se deben seguir estas instrucciones:

- Retire la base de prueba y el cartucho de transferencia conectados del instrumento y conecte la parte de la base de prueba a un receptor de muestras abierto, NO UTILIZADO. La base de prueba y el cartucho de transferencia conectados DEBEN estar fijados a un receptor de muestras antes de desecharlos. Para este fin puede utilizarse un receptor de muestras de un nuevo paquete de cartucho de transferencia.
- Retire el receptor de muestras azul por separado y con cuidado del instrumento. El receptor de muestras debe sujetarse y mantenerse en posición vertical para evitar que derrame el contenido líquido.
- En la pantalla de inicio, ejecute una nueva prueba. Siga las indicaciones de la pantalla. Sin embargo, cuando se le solicite que introduzca el receptor de muestras, reutilice el receptor de muestras y NO vuelva a eluir el hisopo.

LIMITACIONES

- El rendimiento de ID NOW COVID-19 se evaluó utilizando únicamente los procedimientos provistos en este prospecto de producto. Las modificaciones efectuadas en estos procedimientos pueden alterar el rendimiento de la prueba.
- Los resultados negativos deben considerarse presuntos, y deben probarse con otro ensayo molecular autorizado, si es necesario para el control clínico, incluido el control de infecciones.
- Pueden producirse resultados falsos negativos si una muestra se recoge, transporta o manipula de forma inadecuada. También pueden producirse resultados falsos negativos si hay inhibidores de amplificación en la muestra o si hay niveles inadecuados de virus en la muestra. Los resultados negativos se deben considerar en el contexto de las exposiciones recientes del paciente, la anamnesis y la presencia de signos y síntomas clínicos coherentes con la COVID-19.
- Al igual que con cualquier prueba molecular, las mutaciones en las regiones diana de la prueba ID NOW COVID-19 de Abbott podrían afectar a la unión del cebador o la sonda, lo que impediría detectar la presencia del virus.
- La prueba no puede descartar enfermedades causadas por otros patógenos bacterianos o virales.
- El ID NOW COVID-19 está indicado para el análisis de un hisopo directamente sin elución en medio de transporte vírico, ya que la dilución dará como resultado una detección reducida de muestras positivas bajas que están cerca del límite de detección de la prueba.
- Las muestras de hisopo eluidas en VTM no son adecuadas para utilizarse en esta prueba.

CARACTERÍSTICAS de RENDIMIENTO

Estudio clínico:

El rendimiento del ID NOW COVID-19 se evaluó utilizando muestras de hisopos nasofaríngeos (NP) clínicos artificiales obtenidos de individuos con signos y síntomas de enfermedad respiratoria. Las muestras se prepararon añadiendo ARN viral purificado que contiene secuencias diana del genoma del SARS-CoV-2 a una matriz clínica de hisopo nasofaríngeo, a concentraciones de aproximadamente 2x LD y 5x LD. Las muestras negativas de hisopo nasofaríngeo también se analizaron en este estudio.

La siguiente tabla presenta el acuerdo de la prueba ID NOW COVID-19 con los resultados previstos por concentración de muestra.

Acuerdo de la prueba ID NOW™ COVID-19 con los resultados previstos por concentración de muestra.

Concentración diana	Número de concordancia/ Número de análisis	% de acuerdo [IC del 95 %]
2X LD	20/20	100 % [83,9 % - 100 %]
5X LD	10/10	100 % [72,3 % - 100 %]
Negativa	30/30	100 % [88,7 % - 100 %]

ESTUDIOS ANALÍTICOS:

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección (LD) del ID NOW COVID-19 en la matriz de hisopo nasofaríngeo natural se determinó evaluando diferentes concentraciones de ARN viral purificado que contenía secuencias diana del genoma del SARS-CoV-2.

Las muestras de hisopos nasofaríngeos naturales presuntamente negativas se diluyeron en tampón de elución ID NOW COVID-19. Los eluidos de hisopos se combinaron y mezclaron a fondo para crear una mezcla de matriz clínica que se utilizará como diluyente. El ARN viral se diluyó en esta mezcla de matriz nasofaríngea natural con el fin de producir diluciones de virus para el análisis.

El LD se determinó como la concentración más baja que se detectó ≥95 % del tiempo (es decir, concentración en la que al menos 19 de 20 réplicas dieron positivo).

El LD confirmado en la matriz de hisopo nasofaríngeo natural se indica en la tabla siguiente:

Resultados del estudio de límite de detección (LD)

Virus	LD declarado (Equivalentes de genoma/ml)	Positivo/Réplicas
ARN del SARS-CoV-2	125	19/20

Reactividad analítica (inclusividad)

Debido a la disponibilidad limitada de los aislados de SARS-CoV-2 para las pruebas de inclusión, se realizó una alineación con el cebador de oligonucleótidos y las secuencias de sonda del ensayo ID NOW COVID-19 con todas las secuencias de ácido nucleico disponibles públicamente para el 2019-nCoV en bases de datos públicas (NCBI y Genbank), con el fin de demostrar la inclusión prevista del ensayo ID NOW COVID-19. Todas las alineaciones muestran una identidad del 100 % del ID NOW COVID-19 con las secuencias de SARS-CoV-2 disponibles a fecha 20 de marzo de 2020.

Especificidad analítica (reactividad cruzada)

Se realizó un análisis *in silico* de posibles las reacciones cruzadas con todos los microorganismos indicados en la tabla a continuación, asignando cebadores y sondas de la secuencia de ácidos nucleicos diana del ID NOW COVID-19 a las secuencias descargadas de las bases de datos NCBI Genbank y GISAID.

El ensayo ID NOW COVID-19, diseñado para la detección específica del SARS-CoV-2, no mostró homologías combinadas significativas con el genoma humano, otros coronavirus o microflora humana que pudieran predecir posibles resultados falsos del ID NOW COVID-19.

Microorganismos de especificidad analítica del ID NOW™ COVID-19

Microorganismos de la misma familia genética	Microorganismos de alta prioridad
Coronavirus humano 229E	Adenovirus humano A
Coronavirus humano OC43	Adenovirus humano B
Coronavirus humano HKU1	Adenovirus humano B1
Coronavirus humano NL63	Adenovirus humano C
SARS-coronavirus	Adenovirus humano D
MERS-coronavirus	Adenovirus humano E
	Adenovirus humano F
	Adenovirus humano G
	Adenovirus humano 7
	Adenovirus humano 8
	Metapneumovirus humano (hMPV)
	Virus paragripales humanos 1 - 4
	Gripe A
	Gripe B
	Enterovirus A-L
	Virus sincitial respiratorio humano
	Rinovirus A - C
	Chlamydia pneumoniae

Microorganismos de la misma familia genética	Microorganismos de alta prioridad
	Haemophilus influenzae
	Legionella pneumophila
	Mycobacterium tuberculosis
	Streptococcus pneumoniae
	Streptococcus pyogenes
	Bordetella pertussis
	Mycoplasma pneumoniae
	Pneumocystis jiroveci (PJP)
	Candida albicans
	Pseudomonas aeruginosa
	Staphylococcus epidermis
	Staphylococcus salivarius (Rhodotorula mucilaginosa)
	Streptococcus salivarius

SÍMBOLOS

 Frágil, manipular con cuidado	BASE Base de prueba	CARTRDG Cartucho de transferencia
RCVR Receptor de prueba	 Atención, consultar los documentos adjuntos.	CE Marca CE
IVD Diagnóstico *in vitro*	EUA Para uso exclusivo con autorización de uso de emergencia (aplicable a EE. UU. exclusivamente)	

INFORMACIÓN para PEDIDOS y DETALLES de CONTACTO

Números de realización de pedidos:

191-000: ID NOW COVID-19 Test Kit [Kit de análisis]

190-080: ID NOW COVID-19 Control Swab Kit [Kit de hisopo de control]

EE. UU. +1 877 441 7440
Fuera de EE. UU. +1 321 441 7200

Línea de ayuda del soporte técnico
Puede obtener más información en Soporte técnico en:

EE. UU.
+ 1 855 731 2288 ts.scr@abbott.com

África, Rusia, CEI
+44 161 483 9032 EMEproductsupport@abbott.com

Asia-Pacífico
+61 7 3363 7711 APproductsupport@abbott.com

Canadá
+1 800 818 8335 CANproductsupport@abbott.com

Europa y Oriente Próximo
+44 161 483 9032 EMEproductsupport@abbott.com

América Latina
+57 (1) 4824033 LAproductsupport@abbott.com

REFERENCIAS

1. Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition, Vol. 1, ASM. (2015) pg. 279.
2. https://www.iata.org/en/programs/cargo/dgr

Abbott

Abbott Diagnostics Scarborough, Inc.
10 Southgate Road
Scarborough, Maine 04074 USA
www.globalpointofcare.abbott

CE IVD

© 2020 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

Software © 2020 Axxin, used under license.
All trademarks referenced are trademarks of their respective owners.
This product is licensed and sold under agreement with Biosearch Technologies, Inc.
This product is sold under license from PHRI Properties and may be used under PHRI Properties patent rights only for human *in vitro* diagnostics.

IN191000es Rev.1 2020/09

Abbott
ID NOW
COVID-19

PI - ES

Size:
Flat size: 8.375″ x 10.75″
Finished: 8.375″ x 5.375″

Printed Colors



CMYK

Incoming Inspection Colors
(For Reference Only)
Colors below are not used for printing



PMS 2995 U
Primary Blue

PMS 224 U
Magenta-Pink

PMS 303 U
Dark Blue

PN: IN191000es
Rev: 1

Date of Last Revision:
1.2 2020/09/11

Abbott

REF 62FK10

CE

Panbio™

COVID-19/Flu A&B Rapid Panel

(Nasopharyngeal)

Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH
Orlaweg 1, D-07743 Jena, Germany
www.globalpointofcare.abbott

Date Issued: 2022.10
62FK10A-08-A1

© 2022 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.



Scan the QR Code for more information about this product. / Escanee el código QR para obtener más información sobre este producto. / Escaneie o código QR para mais informações deste produto. / Scanați codul QR pentru mai multe informații despre acest produs. / Skenirajte QR kod za više informacija o ovom proizvodu. / Для получения дополнительной информации об этом продукте отсканируйте QR-код. / Zeskanuj kod QR, aby uzyskać więcej informacji o produkcie. / Další informace o tomto výrobku získáte naskenováním QR kódu.

About the Test

EN

Introduction

The coronavirus disease (COVID-19) is an infectious disease caused by a newly discovered coronavirus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2).[1] The SARS-CoV-2 is a β-coronavirus, which is an enveloped non-segmented positive-sense RNA virus.[2] It is spread by human-to-human transmission via droplets or direct contact. Based on the current epidemiological investigation, the incubation period is 1 to 14 days, mostly 3 to 7 days. Among patients with pneumonia caused by SARS-CoV-2, fever was the most common symptom, followed by cough.[3] Influenza, commonly called "the flu", is an infectious disease caused by influenza viruses.[4] The symptoms range from mild to severe and often include fever, runny nose, sore throat, muscle pain, headache, coughing, and fatigue. These symptoms typically begin 1-4 days after exposure to the virus and last for about 2-8 days.[5]

Test Principle

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal) contains a membrane strip, which is pre-coated with immobilized anti-SARS-CoV-2, anti-Influenza A, and anti-Influenza B antibodies on the test line and mouse monoclonal anti-chicken IgY on the control line. Four types of gold conjugates (monoclonal antibodies specific to SARS-CoV-2, Influenza A, and Influenza B gold conjugates and chicken IgY gold conjugate) move upward on the membrane chromatographically and react with anti-SARS-CoV-2, anti-Influenza A, anti-Influenza B antibodies and pre-coated mouse monoclonal anti-chicken IgY antibody respectively. For a positive result, each pathogen of SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B will form a test line in the result window. Neither the test line nor the control line are visible in the result window prior to applying the patient specimen. A visible control line is required to indicate a test result is valid.

Intended Use

The Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) is an *in vitro* diagnostic rapid test for the qualitative detection of SARS-CoV-2 and Influenza A&B antigen (Ag) in human nasopharyngeal swab specimens from individuals, who meet COVID-19 and/or Influenza clinical and/or epidemiological criteria.

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) is for professional use and is intended to be used as an aid in the diagnosis of SARS-CoV-2 and Influenza infection. The product may be used in laboratory and non-laboratory environment.

The test provides preliminary test results. Negative results don't preclude SARS-CoV-2 and Influenza A&B infection and they cannot be used as the sole basis for treatment or other management decisions. Negative results should be combined with clinical observations, patient history, and epidemiological information.

Materials Provided

- 10 Test devices with desiccant in individual foil pouches
- 10 Extraction buffer tubes in a foil pouch
- 10 Nozzle caps
- 10 Sterilized nasopharyngeal swabs for specimen collection
- 1 Tube rack
- 1 Instructions for Use with Quick Reference Guide

Materials Required but not Provided

- Personal Protective Equipment per local recommendations (i.e. gown/lab coat, face mask, face shield/eye goggles and gloves)
- Timer
- Biohazard container

Active Ingredients of Main Components

- Test device
  Gold conjugate: monoclonal antibodies to SARS-CoV-2 Ag, anti-Influenza A Ag, and B Ag - gold colloid and Chicken IgY - gold colloid, Test line: Mouse monoclonal anti-SARS-CoV-2, Mouse monoclonal anti-Influenza A and Fragment antigen-binding anti-Influenza B, Control line: Mouse monoclonal anti-Chicken IgY
- Buffer: Tricine, Sodium Chloride, Tween 20, Tergitol 15-S-9, Sodium Azide (<0.1%)

Storage and Stability of Test Kit

1. The test kit should be stored at a temperature between 2 - 30 °C. Do not freeze the kit or its components.
2. When stored in a refrigerator, all kit components must be brought to room temperature (15 - 30 °C) for a minimum of 30 minutes prior to performing the test. Do not open the pouch while components come to room temperature.
3. Perform the test immediately after removing the test device from the foil pouch.
4. Do not use the test kit beyond its expiration date.
5. The shelf life of the kit is indicated on the outer package.
6. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.
7. Direct swab specimens should be tested immediately after collection. If immediate testing is not possible, the swab specimen can be kept in an extraction buffer tube filled with extraction buffer at room temperature (15 - 30°C) for up to 2 hours prior to testing.

Warnings

1. For *in vitro* diagnostic use only. Do not reuse the test device and kit components.
2. These instructions must be strictly followed by a trained healthcare professional to achieve accurate results. All users have to read the instructions prior to performing a test.

3. Do not eat or smoke while handling specimens.
4. Wear protective gloves while handling specimens and wash hands thoroughly afterwards.
5. Avoid splashing or aerosol formation of specimen and buffer.
6. Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
7. Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials (i.e. swab, extraction buffer tube, test device) in a biohazard container as if they were infectious waste and dispose according to applicable local regulations.
8. Do not mix or interchange different specimens.
9. Do not mix reagent of those for other product.
10. Do not store the test kit in direct sunlight.
11. To avoid contamination, do not touch the head of provided swab when opening the swab pouch.
12. The sterilized swabs should be used only for nasopharyngeal specimen collection.
13. To avoid cross-contamination, do not reuse the swabs for specimen collection.
14. Do not dilute the collected swab with any solution except for the provided buffer.
15. The buffer contains <0.1% sodium azide as a preservative which may be toxic if ingested. When disposed of through a sink, flush with a large volume of water.[6]

Test Procedure (Refer to Figures)

Nasopharyngeal Swab Specimens

Note: Healthcare professionals should comply with personal safety guidelines including the use of personal protective equipment.

Test Preparation

1. When stored in a refrigerator, all kit components must be brought to room temperature (15 - 30 °C) for a minimum of 30 minutes prior to performing the test. Do not open the pouch while components come to room temperature.
2. Remove the test device from the foil pouch. Place on a flat, horizontal and clean surface.
3. Keep extraction buffer tube upright and remove foil. Place the extraction buffer tube in the tube rack.

Nasopharyngeal Specimen Collection & Extraction

1. Tilt the patient's head back slightly about 45°-70° to straighten the passage from the front of the nose.
2. Insert the swab through the nostril parallel to the palate.
   ⚠ **Caution:** Use dedicated nasopharyngeal swab for specimen collection, provided in the kit.
3. Swab should reach depth equal to distance from nostrils to outer opening of the ear.

ENGLISH

⚠ **Caution:** If resistance is encountered during insertion of the swab, remove it and attempt insertion in the opposite nostril.

4. Gently rub and roll the swab, 5 times. Leave the swab in place for several seconds to absorb secretions.
5. Slowly remove swab while rotating it and insert into the extraction buffer tube.
6. Swirl the swab tip in the buffer fluid inside the extraction buffer tube, pushing into the wall of the extraction buffer tube at least five times and then squeeze out the swab by squeezing the extraction buffer tube with your fingers.
7. Dispose of the used swab in accordance with your local regulations and biohazard waste disposal protocol.
8. Press the nozzle cap tightly onto the extraction buffer tube.

Reaction with Test Device

1. Dispense 4 drops of extracted specimen vertically into the specimen well on the device.
   ⚠ **Caution:** Do not handle or move the test device until the test is complete and ready for reading.
2. Start timer. Read result at 15 minutes. Do not read result before 15 minutes or after 20 minutes.
3. Close the nozzle using cap and dispose of the extraction buffer tube according to your local regulations and biohazard waste disposal protocol.
4. Dispose of the used device according to your local regulations and biohazard waste disposal protocol.

Test Limitations

1. The contents of this kit are to be used for the professional and qualitative detection of SARS-CoV-2 and Influenza A&B antigens from nasopharyngeal swab. Other specimen types may lead to incorrect results and must not be used.
2. Failure to follow the instructions for test procedure and interpretation of test results may adversely affect test performance and/or produce invalid results.
3. A negative test result may occur if the specimen was collected, extracted or transported improperly. A negative test result does not eliminate the possibility of SARS-CoV-2 and Influenza A&B infection and should be confirmed by viral culture or a molecular assay.
4. Positive test results do not rule out co-infections with other pathogens.
5. Test results must be evaluated in conjunction with other clinical data available to the physician.
6. Reading the test results earlier than 15 minutes or later than 20 minutes may give incorrect results.
7. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) is not intended to detect from defective (non-infectious) virus during the later stages of viral shedding that might be detected by PCR molecular tests.[7]

8. Positive results may occur in cases of infection with SARS-CoV or Albumin.
9. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) was not evaluated for the following influenza strains as referenced by WHO guideline: A/Darwin/9/2021 (H3N2), B/Austria/1359417/2021.
10. Wait 4 hours before repeating the test following an invalid result.
11. Clinical performance was evaluated with frozen samples, and test performance may be different with fresh samples.

Quality Control

Procedural Controls

The test device has a control line ("C") and test lines ("FLU B", "FLU A", "COV 19") on the surface of the test device. Neither the test line nor the control line are visible in the result window before applying a specimen. The control line is used for procedural control and should always appear if the test procedure is performed properly and the test reagents of the control line are working.

External Controls

Good laboratory practice recommends the use of external control materials. Users should follow federal, state and local guidelines concerning the frequency of external control testing. Specific positive controls can be ordered by the following catalogue number: 62FK11C.

Performance Characteristics

1. **Clinical performance with NP Specimen of Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)**

   The Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) is designed for nasopharyngeal specimen collection from one nostril. The performance of Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) was established with Nasopharyngeal swabs tested in Korea in September 2021 with 100 COVID-19 positives, 50 Influenza A positives, 50 Influenza B positives, and 200 negative specimens for COVID-19 and Influenza A&B antigen.

   Samples were collected from subjects who presented with symptoms of Influenza A&B and/or COVID-19. One specimen was collected for testing on Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) and another for PCR. Swabs were collected and extracted into viral transport media. Samples were frozen after collection and thawed before testing. The performance of the Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) was evaluated by comparison to a CE-marked RT-PCR method.

   The study showed a sensitivity of 88.0% (95% CI: 80.0-93.6%) and specificity of 100.0% (95% CI: 98.2-100.0%) for SARS-CoV-2, a sensitivity of 92.0% (95% CI: 80.8-97.8%) and specificity of 100.0% (95% CI: 98.2-100.0%) for Influenza A, and a sensitivity of 100.0% (95% CI: 92.9-100.0%) and specificity of 100.0% (95% CI: 98.2-100.0%) for Influenza B.

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) Results for NP COVID-19

SARS-CoV-2		RT-PCR			Overall Sensitivity (95% CI)	Overall Specificity (95% CI)
		Positive	Negative	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Positive	88	0	88	88.0% (80.0-93.6%)	100.0% (98.2-100.0%)
	Negative	12	200	212		
	Total	100	200	300		

- Positive agreement of the Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) is higher with specimens of Ct values ≤30 with a sensitivity of 94.4% (95%CI:87.5-98.3%) and lower with specimens of Ct values >30 with a sensitivity of 30.0% (95%CI:6.7-65.3%) for SARS-CoV-2. As suggested in references 7-9, patients with Ct values>30 are no longer contagious.[7, 8, 9]

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) Results for NP Influenza A

Influenza A		RT-PCR			Overall Sensitivity (95% CI)	Overall Specificity (95% CI)
		Positive	Negative	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Positive	46	0	46	92.0% (80.8-97.8%)	100.0% (98.2-100.0%)
	Negative	4	200	204		
	Total	50	200	250		

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) Results for NP Influenza B

Influenza B		RT-PCR			Overall Sensitivity (95% CI)	Overall Specificity (95% CI)
		Positive	Negative	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Positive	50	0	50	100.0% (92.9-100.0%)	100.0% (98.2-100.0%)
	Negative	0	200	200		
	Total	50	200	250		

2. Detection Limit

The detection limit of the Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) was determined on the following virus strains:

- 1.54 X 10^2 $TCID_{50}$/ml of SARS-CoV-2 which was isolated from a COVID-19 confirmed patient in Korea.
- 4.07 X 10^2 $TCID_{50}$/ml of Influenza A H1N1/California/07/09 strain.

- 1.14 X 10^2 $TCID_{50}$/ml of Influenza A H3N2/Perth/16/09.
- 2.46 X 10^4 IU/ml of Influenza B/Wisconsin/1/2010.

This influenza A viral strains were obtained from ZeptoMetrix with titer information. The performance characteristics for influenza A virus can vary depending on the subtypes, region, and year of occurrence since influenza A viruses have undergone minor amino acid changes in the target epitope region.

3. Hook Effect

There is no hook effect at:

- 1.0 X $10^{5.8}$ $TCID_{50}$/ml with SARS-CoV-2 culture fluid which was isolated from a COVID-19 confirmed patient in Korea.
- 1.17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml with Influenza A H1N1/California/07/09.
- 1.17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml with Influenza A H3N2/Perth/16/09.
- 1.40 X 10^7 IU/ml with Influenza B/Wisconsin/1/2010.
- 5.0 X $10^{7.25}$ $TCID_{50}$/ml with Influenza A H1N1/New Jersey/8/76.
- 3.40 X 10^9 $TCID_{50}$/ml with Influenza A/Denver/1/57.
- 5.0 X $10^{6.5}$ $TCID_{50}$/ml with Influenza A/Hong Kong/8/68.

4. Cross Reactivity

Cross-reactivity of Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) was evaluated by testing 76 viruses and 37 other microorganisms (5 replicates of each). The human Influenza A strains, as expected, reacted with the Influenza A test line and did not cross react with the influenza B or COVID-19 test lines. The human Influenza B strains, as expected, reacted with the Influenza B test line and did not cross react with the influenza A or COVID-19 test lines. The non-human influenza strains did not react with the Influenza A, B or COVID-19 test lines. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) has cross-reactivity with Human-SARS-coronavirus Nucleoprotein at a concentration of ≥200 pg/ml due to SARS-CoV having a high homology to the SARS-CoV-2 (79.6%).

Tested Viruses		
SARS-CoV Nucleoprotein	Influenza A H1N1 (California/07/09)	Influenza A H1N1 (A/Beijing/262/1995)
Influenza A H1N1 (A/New Jersey/8/76)	Influenza A H1N1 (A/Denver/1/57)	Influenza H1N1 (A/Puerto Rico/8/34)
Influenza A H1N1 (A/ FM/1/47)	Influenza H3N2 (A/Hong Kong/8/68)	Influenza A H3N2 (A/Victoria/3/75)
Influenza A H3N2 (A/Port Chalmers/1/73)	Influenza A H3N2 (Perth/16/09)	Influenza A H3N2 (Wisconsin/67/05)
Influenza A H5N1 (A/ China/2006)	Influenza A H5N2 (A/chicken/ Iowa/ 04-20/2015)*	Influenza A H7N1 (A/turkey/ Italy/4602/99)*
Influenza A H7N2 (A/ ruddy turnstone/ New Jersey/563/2006)*	Influenza A H7N7 (A/chicken/ Netherlands/1/03)*	Influenza B (B/Flori- da/78/2015, Victoria Lineage)
Influenza B (B/ Florida/4/2006, Yamagata Lineage)	Influenza B (B/Maryland/1/59, Victoria Lineage)	Influenza B (B/GL/1739/54)
Influenza B (B /Taiwan/2/62)	Influenza B (B/Malaysia/2506/04, Victoria Lineage)	Influenza B (B/Wisconsin/1/2010, Yamagata Lineage)
Influenza A H1N1 (A/Wisconsin/588/2019)/ (A/Victoria/2570/2019)	Influenza A H3N2 (A/Cambodia/ e0826360/2020)	Influenza B (B/ Phuket/3073/2013, Yamagata Lineage)
Influenza B (B/ Washington/02/2019, Victoria Lineage)		

* non-human influenza strain

There was no cross-reaction with the viruses and microorganisms listed below.

Tested Viruses		
HCoV-HKU1	HCoV-NL63	HCoV-OC43
MERS-CoV	HCoV-229E	Human adenovirus 1
Human adenovirus 2	Human adenovirus 3	Human adenovirus 4
Human adenovirus 5	Adenovirus 6	Adenovirus 7
Adenovirus 10	Human adenovirus 18	Adenovirus 21
Norovirus	Epstein Barr Virus	Human herpesvirus (HSV) 1
Human herpesvirus (HSV) 2	Human cytomegalovirus	Mumps virus
Parainfluenza virus type 4A	Parainfluenza virus type 4B	Parainfluenza type 1
Parainfluenza type 2	Parainfluenza type 3	Human respiratory syncytial virus A
Human respiratory syncytial virus B	Measles virus	hMPV 16 type A1
Human rhinovirus type 1B	Rhinovirus type A2	Human rhinovirus 14
Rhinovirus A16	Rotavirus A	Sendai virus
Rubella virus	Coxsackievirus A9	Coxsackievirus B4
Coxsackievirus B5	Human echovirus 2	Human echovirus 6
Echovirus 7	Echovirus 11	Human enterovirus 71
Poliovirus 1	Enterovirus D68	

Tested Microorganisms		
Bordetella pertussis	*Mycobacterium avium*	*Staphylococcus epidermidis*
Candida albicans	*Mycobacterium tuberculosis*	*Staphylococcus haemolyticus*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus faecalis	*Neisseria lactamica*	*Streptococcus pneumoniae*
Escherichia coli	*Neisseria gonorrhoeae*	*Streptococcus pyogenes*
Fusobacterium necrophorum	*Neisseria meningitidis*	*Streptococcus salivarius*
Haemophilus influenzae	*Neisseria sp. (Neisseria lactamica)*	*Streptococcus anginosus*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus vulgaris*	*Pneumocytis jirovecci (PJP)*
Legionella pneumophila	*Pseudomonas aeruginosa*	*Pooled human nasal wash*
Moraxella catarrhalis	*Corynebacterium diphtheriae*	*Enterococcus faecium*
Lactobacillus plantarum	*Neisseria sicca*	*Streptococcus agalactiae*
Streptococcus bovis	*Streptococcus oralis*	*Arcanobacterium haemolyticum*
Staphylococcus aureus		

5. Interfering Substances

The following 53 potentially interfering substances (5 replicates of each) have no impact on Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) with the exception of Albumin at concentrations >55 g/L.

Type	Tested Substances			
Endogenous	Mucin	Human blood	Bilirubin	Antinuclear antibody (ANA)
	Blood lipid	Hemoglobin	Rheumatoid factor	Human Anti-Mouse Antibody
	Albumin	Mometasone	Lopinavir	Acetylsalicylic acid
Exogenous	Phenylephrine	Fluticasone	Ritonavir	Ibuprofen
	Oxymetazoline	Chlorpheniramine	Arbidol	Sulphur (Sulfur)
	Sodium chloride	Diphenhydramine	Levofloxacin	Luffa opperculata
	Nasal spray (NasalCrom)	Histamine dihydrochloride	Azithromycin	Benzocaine
	Nasal spray (Equate)	Histamine	Meropenem	Menthol
	Beclomethasone	Galphimia glauca	Tobramycin	Acetaminophen
	Dexamethasone	Histaminum hydrochloricum	Mupirocin	Mouthwash (Crest)
	Flunisolide	Zanamivir	Albuterol	Mouthwash (Listerine)
	Triamcinolone acetonide	Ribavirin (Rebetol)	Ephedrine	Mouthwash (Therabreath)
	Budesonide	Tamiflu (Oseltamivir)	Guaiacol glyceryl ether	Heparin
	Phenylpropanolamine			

6. Repeatability & Reproducibility

Repeatability & Reproducibility of Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) was established using 3 positive specimens (moderate, weak, LoD proximity concentration) per each strain (SARS-CoV-2, Influenza A H1N1, Influenza A H3N2, and Influenza B) and negative specimen. There were no differences observed within-run, between-run, between-lots, between-sites, and between-days.

PREPARATION

1 When stored in a refrigerator, all kit components must be brought to room temperature (15 - 30 °C) for a minimum of 30 minutes prior to performing the test. Do not open the pouch while components come to room temperature.

Note: Healthcare professionals should comply with personal safety guidelines including the use of personal protective equipment.

---

2 **Open the package and look for the following:**

1. Test device with desiccant in individual foil pouch
2. Extraction buffer tube in the foil pouch
3. Nozzle cap
4. Sterilized nasopharyngeal swab for specimen collection
5. Tube rack
6. Instructions for Use with Quick Reference Guide

---

3 Carefully read these instructions prior to using Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP).

---

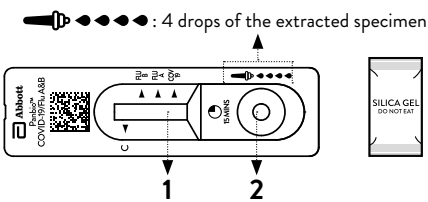
4 Look at the expiration date of the kit box. If the expiration date has passed, select another kit for use.

---

5 **Open the foil pouch of test device and look for the following:**

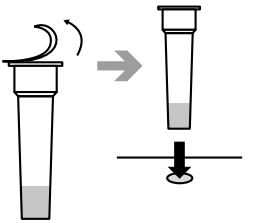
1. Result window
2. Specimen well

Then, label the device with the patient identifier.

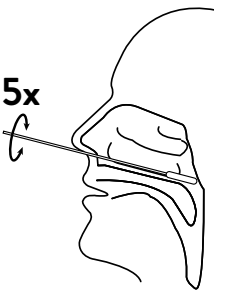


TEST PROCEDURE

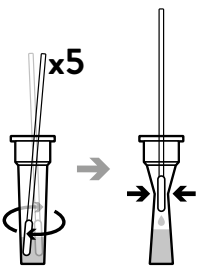
1 Keep extraction buffer tube upright and remove foil. Place the extraction buffer tube in the tube rack.



2 Tilt the patient's head back (about 45°-70°). Insert the swab through the nostril. Gently rub and roll the swab, 5 times. Leave the swab in place for several seconds. Slowly remove swab.



3 Insert the swab specimen into the extraction buffer tube. Swirl the swab tip in the buffer fluid inside the extraction buffer tube, pushing into the wall of the extraction buffer tube at least five times and then squeeze out the swab by squeezing the extraction buffer tube with your fingers.

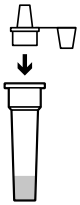


4 Dispose of the used swab in accordance with your local regulations and biohazard waste disposal protocol.



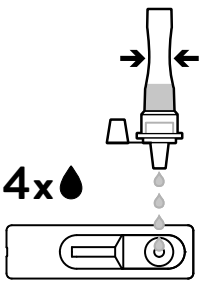
TEST PROCEDURE

5 Press the nozzle cap tightly onto the extraction buffer tube.



6 Dispense 4 drops of extracted specimen vertically into the specimen well on the device.

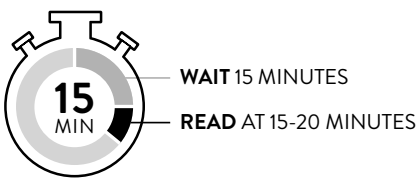
⚠ **Caution:** Do not handle or move the test device until the test is complete and ready for reading.



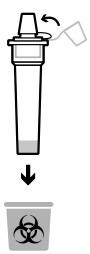
7 Start timer. Read result at 15 minutes.

Do not read result after 20 minutes.

Note: A Control ("C") line may appear in the result window in a few minutes but a test line ("FLU B", "FLU A", "COV 19") may take as long as 15 minutes to appear.



8 Close the nozzle using cap and dispose of the extraction buffer tube according to your local regulations and biohazard waste disposal protocol.

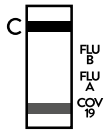


ENGLISH

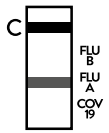
TEST INTERPRETATION

POSITIVE

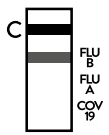
- **COVID-19 positive:** The presence of two colored lines (test line “COV 19” and control line “C”) within the result window.



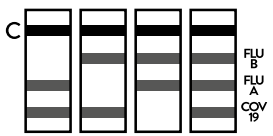
- **Influenza A positive:** The presence of two colored lines (test line “FLU A” and control line “C”) within the result window.



- **Influenza B positive:** The presence of two colored lines (test line “FLU B” and control line “C”) within the result window.



- **Multi positives:** The presence of three or four colored lines (test line “FLU B”, “FLU A”, “COV 19” and control line “C”) within the result window.



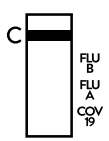
⚠ **Caution:** The presence of any test line (“FLU B”, “FLU A”, “COV 19”), no matter how faint, indicates a positive result.

Note: In the case of multi-positives, User should be aware of this unique situation as both can present with similar symptoms but vary in treatment.

Note that the test provides preliminary test results.

NEGATIVE

The presence of only the control line (“C”) and no test line (“FLU B”, “FLU A”, “COV 19”) within the result window indicates a negative result.

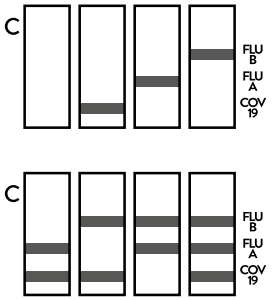


TEST INTERPRETATION

INVALID

If the control line (“C”) is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid (even though the test line may be visible).

Instructions may not have been followed correctly. It is recommended to wait 4 hours, read the IFU again and collect a new specimen and re-test using a new test device.



9 Dispose of the used device according to your local regulations and biohazard waste disposal protocol.



Acerca de la prueba

ES

Introducción

La enfermedad del coronavirus (COVID-19) es una enfermedad infecciosa causada por un coronavirus recientemente descubierto, el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2).[1] El SARS-CoV-2 es un β-coronavirus, que es un virus de ARN de sentido positivo no segmentado con envoltura.[2] Se transmite de persona a persona a través de gotitas respiratorias o por contacto directo. Según la investigación epidemiológica actual, el período de incubación es de 1 a 14 días, principalmente de 3 a 7 días. Entre los pacientes con neumonía causada por el SARS-CoV-2, la fiebre fue el síntoma más común, seguida de la tos.[3] La gripe es una enfermedad infecciosa causada por los virus de la gripe.[4] Los síntomas varían de leves a graves y, a menudo, incluyen fiebre, secreción nasal, dolor de garganta, dolor muscular, dolor de cabeza, tos y fatiga. Estos síntomas comienzan por lo general entre 1 y 4 días después de la exposición al virus y duran aproximadamente entre 2 y 8 días.[5]

Principio de la prueba

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal) contiene una tira de membrana, que está recubierta con anticuerpos anti-SARS-CoV-2, anti-gripe A y anti-gripe B inmovilizados en la línea de prueba y anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgY de gallina en la línea de control. Cuatro tipos de conjugados de oro (anticuerpos monoclonales específicos para los conjugados de oro SARS-CoV-2, gripe A y gripe B y conjugado de oro de IgY de gallina) se desplazan hacia arriba en la membrana de forma cromatográfica y reaccionan con anticuerpos anti-SARS-CoV-2, anti-gripe A y anti-gripe B y el anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgY de gallina recubierto respectivamente. Para un resultado positivo, cada patógeno de SARS-CoV-2, gripe A y gripe B formará una línea de prueba en la ventana de resultados. Ni la línea de prueba ni la línea de control son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar la muestra del paciente. Se requiere una línea de control visible para indicar que el resultado de una prueba es válido.

Uso previsto

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) es una prueba rápida de diagnóstico *in vitro* para la detección cualitativa del antígeno (Ag) del SARS-CoV-2 y la gripe A y B en muestras nasofaríngeas humanas recogidas con hisopo de personas que cumplen los criterios clínicos o epidemiológicos de la COVID-19 y la gripe.

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) sirve para uso profesional y está destinado a emplearse como ayuda en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 y gripe. El producto se puede utilizar en un entorno de laboratorio y fuera del laboratorio.

La prueba proporciona resultados preliminares de análisis. Los resultados negativos no descartan la infección por SARS-CoV-2 y gripe A y B y no se pueden utilizar como el único fundamento para un tratamiento u otras decisiones de gestión. Los resultados negativos deben combinarse con observaciones clínicas, antecedentes del paciente e información epidemiológica.

Materiales suministrados

- 10 dispositivos de prueba con desecante en bolsas de papel de aluminio individuales
- 10 tubos de tampón de extracción en una bolsa de papel de aluminio
- 10 tapones de boquillas
- 10 hisopos nasofaríngeos esterilizados para la recogida de muestras
- 1 gradilla para tubos
- 1 instrucciones de uso con guía de referencia rápida

Materiales necesarios que no se suministran

- Equipo de protección personal según las recomendaciones locales (es decir, bata quirúrgica/de laboratorio, mascarilla, careta protectora/gafas y guantes)
- Temporizador
- Contenedor de riesgo biológico

Principios activos de los componentes principales

- Dispositivo de prueba
  Conjugado de oro: anticuerpos monoclonales para el antígeno (Ag) del SARS-CoV-2 y anti-gripe A y B - oro coloidal e IgY de gallina - oro coloidal, línea de prueba: anticuerpos monoclonales de ratón anti-SARS-CoV-2, anticuerpos monoclonales de ratón anti-gripe A y fragmento de unión a antígeno anti-gripe B, línea de control: anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgY de gallina
- Tampón: Tricina, cloruro de sodio, Tween 20, Tergitol 15-S-9, azida sódica (<0,1 %)

Almacenamiento y estabilidad del kit de prueba

1. El kit de prueba debe almacenarse a una temperatura entre 2 °C y 30 °C. No congele el kit ni sus componentes.
2. Cuando se almacenan en un refrigerador, todos los componentes del kit deben llevarse a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) durante un mínimo de 30 minutos antes de realizar la prueba. No abra la bolsa mientras los componentes estén alcanzando la temperatura ambiente.
3. Realice la prueba inmediatamente después de sacar el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio.
4. No use el kit de prueba después de la fecha de caducidad.
5. La vida útil del kit es la que se indica en el envase exterior.
6. No utilice el kit de prueba si la bolsa está dañada o el sello está roto.

7. Las muestras de hisopo directo deben analizarse inmediatamente después de la recogida. Si no es posible realizar la prueba de inmediato, la muestra de hisopo se puede guardar en un tubo de tampón de extracción lleno de un tampón de extracción a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) hasta 2 horas antes de la prueba.

Advertencias

1. Para uso de diagnóstico *in vitro* únicamente. No reutilice el dispositivo de prueba ni los componentes del kit.
2. Estas instrucciones debe cumplirlas estrictamente un profesional sanitario con formación para lograr resultados precisos. Todos los usuarios deben leer las instrucciones antes de realizar una prueba.
3. No coma ni fume mientras manipula las muestras.
4. Use guantes protectores mientras manipula las muestras y lávese bien las manos después.
5. Evite las salpicaduras o la generación de aerosoles en la muestra y el tampón.
6. Limpie los derrames a fondo con un desinfectante adecuado.
7. Descontamine y deseche todas las muestras, kits de reacción y materiales potencialmente contaminados (es decir, hisopo, tubo de tampón de extracción, dispositivo de prueba) en un contenedor de riesgo biológico como si fueran residuos infecciosos y elimínelos de acuerdo con la normativa local aplicable.
8. No mezcle ni intercambie muestras diferentes.
9. No mezcle reactivos con los de otros productos.
10. No guarde el kit de prueba bajo la luz solar directa.
11. Para evitar la contaminación, no toque la cabeza del hisopo suministrado al abrir la bolsa.
12. Los hisopos esterilizados solo se deben utilizar para la recogida de muestras nasofaríngeas.
13. Para evitar la contaminación cruzada, no reutilice los hisopos para recoger muestras.
14. No diluya el hisopo recogido con ninguna solución excepto el tampón suministrado.
15. El tampón contiene azida sódica <0,1 % como conservante que puede ser tóxico si se ingiere. Si se desecha a través de un fregadero, enjuague con una gran cantidad de agua.[6]

Procedimiento de la prueba (consulte las figuras)

Muestras de hisopo nasofaríngeo

Nota: Los profesionales sanitarios deben cumplir las pautas de seguridad personal, incluido el uso de un equipo de protección personal.

Preparación para la prueba

1. Cuando se almacenan en un refrigerador, todos los componentes del kit deben llevarse a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) durante un mínimo de 30 minutos antes de realizar la prueba. No abra la bolsa mientras los componentes estén alcanzando la temperatura ambiente.
2. Saque el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio. Colóquelo sobre una superficie plana, horizontal y limpia.
3. Mantenga el tubo de tampón de extracción en posición vertical y retire la lámina. Coloque el tubo de tampón de extracción en la gradilla de tubos.

Recolección y extracción de muestras nasofaríngeas

1. Incline la cabeza del paciente hacia atrás entre 45° y 70° para alinear el conducto desde la parte frontal de la nariz.
2. Introduzca el hisopo a través de la fosa nasal de forma paralela al paladar.
   ⚠ **Precaución:** Utilice el hisopo nasofaríngeo específico para la recogida de muestras que se proporciona en el kit.
3. El hisopo debe alcanzar una profundidad igual a la distancia desde las fosas nasales hasta la abertura externa del oído.
   ⚠ **Precaución:** Si encuentra resistencia durante la inserción del hisopo, retírelo e intente introducirlo en la otra fosa nasal.
4. Frote y gire suavemente el hisopo 5 veces. Deje el hisopo en esta posición durante varios segundos para que absorba las secreciones.
5. Retire lentamente el hisopo girándolo e insértelo en el tubo de tampón de extracción.
6. Gire la punta del hisopo en el líquido de solución tampón dentro del tubo de solución tampón de extracción y empuje hacia la pared del tubo al menos cinco veces. A continuación, apriete el tubo de solución tampón con los dedos para exprimir el hisopo.
7. Deseche el hisopo usado de acuerdo con las regulaciones locales y el protocolo de eliminación de desechos de riesgo biológico.
8. Presione el tapón de la boquilla firmemente sobre el tubo de tampón de extracción.

Reacción con el dispositivo de prueba

1. Dispense 4 gotas de la muestra extraída verticalmente en el pocillo de la muestra en el dispositivo.
   ⚠ **Precaución:** No manipule ni mueva el dispositivo de prueba hasta que la prueba haya finalizado y esté lista para su lectura.
2. Inicie el temporizador. Lea el resultado a los 15 minutos. No lo lea antes de 15 minutos ni pasados 20 minutos.
3. Cierre la boquilla con el tapón y deseche el tubo de tampón de extracción de acuerdo con las normativas locales y el protocolo de eliminación de residuos de riesgo biológico.
4. Deseche el dispositivo usado de acuerdo con las normativas locales y el protocolo de eliminación de residuos de riesgo biológico.

Limitaciones de la prueba

1. El contenido de este kit se debe utilizar para la recogida de muestras por un profesional o la recogida asistida de muestras por el propio paciente y para la detección cualitativa de antígenos del SARS-CoV-2 y la gripe A y B a partir de hisopos nasales. Otros tipos de muestra pueden dar lugar a resultados incorrectos y no deben utilizarse.
2. No seguir las instrucciones para el procedimiento de prueba y la interpretación de los resultados de la prueba puede afectar negativamente el rendimiento de la prueba y producir resultados inválidos.
3. Puede producirse un resultado negativo de la prueba si la muestra se recogió, extrajo o transportó incorrectamente. Un resultado negativo de la prueba no elimina la posibilidad de infección por SARS-CoV-2 y gripe A y B y debe confirmarse mediante un cultivo viral o un ensayo molecular.
4. Un resultado positivo no descarta coinfecciones con otros patógenos.
5. Los resultados de la prueba deben evaluarse junto con otros datos clínicos disponibles del médico.
6. Leer los resultados de la prueba antes de los 15 minutos o después de los 20 minutos puede dar resultados incorrectos.
7. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) no está diseñado para detectar virus defectuosos (no infecciosos) durante las últimas etapas de la excreción vírica que podrían detectarse mediante pruebas moleculares de PCR.[7]
8. Pueden producirse resultados positivos en casos de infección por SARS-CoV o albúmina.
9. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) no se evaluó para las siguientes cepas de gripe como se indica en las pautas de la OMS: A/Darwin/9/2021 (H3N2), B/Austria/1359417/2021.
10. Espere 4 horas antes de repetir la prueba después de un resultado no válido.
11. El rendimiento clínico se evaluó con muestras congeladas, y el rendimiento de la prueba puede ser diferente con muestras frescas.

Control de calidad

Controles relativos al procedimiento

El dispositivo de prueba tiene una línea de control («C») y líneas de prueba («FLU B», «FLU A» y «COV 19») en la superficie del dispositivo. Ni la línea de prueba ni la línea de control son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar una muestra. La línea de control se utiliza para el control del procedimiento y siempre debe aparecer si el procedimiento de prueba se ha realizado correctamente y los reactivos de la prueba de la línea de control están funcionando.

Controles externos

Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de materiales de control externos. Los usuarios deben cumplir las directrices federales, estatales y locales

relativas a la frecuencia de las pruebas de control externas. Se pueden solicitar controles positivos específicos con el siguiente número de catálogo: 62FK11C.

Características de rendimiento

1. Rendimiento clínico con muestra NP de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) está diseñado para la recogida de muestras nasofaríngeas de una fosa nasal El rendimiento de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) se estableció con hisopos nasofaríngeos analizados en Corea en septiembre de 2021 con 100 casos de COVID-19 positivos, 50 de gripe A positivos, 50 de gripe B positivos y 200 muestras negativas de COVID-19 y el antígeno de gripe A y B.

Se recolectaron muestras de sujetos que presentaban síntomas de gripe A y B y/o COVID-19. Se recolectó una muestra para el análisis de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) y otra para la PCR. Se recolectaron los hisopos y se colocaron en medios de transporte viral. Las muestras se congelaron después de recolectarse y se descongelaron antes de las pruebas. El rendimiento de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) se evaluó en comparación con un método de RT-PCR con marca CE.

El estudio clínico mostró una sensibilidad del 88,0 % (IC del 95 %: 80,0 %-93,6 %) y una especificidad del 100,0 % (IC del 95 %: 98,2 %-100,0 %) para SARS-CoV-2, una sensibilidad del 92,0 % (IC del 95 %: 80,8 %-97,8 %) y una especificidad del 100,0 % (IC del 95 %: 98,2 %-100,0 %) para la gripe A, y una sensibilidad del 100,0 % (IC del 95 %: 92,9 %-100,0 %) y una especificidad del 100,0 % (IC del 95 %: 98,2-100,0%) para la gripe B.

Resultados de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) para la prueba nasofaríngea de la COVID-19

SARS-CoV-2		RT-PCR			Sensibilidad total (IC del 95 %)	Especificidad total (IC del 95 %)
		Positiva	Negativa	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Positiva	88	0	88	88,0 % (80,0-93,6 %)	100,0 % (98,2-100,0 %)
	Negativo	12	200	212		
	Total	100	200	300		

- La concordancia positiva de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) es mayor con muestras de valores de Ct ≤30 con una sensibilidad del 94,4 % (IC del 95 %: 87,5-98,3 %) y menor con muestras de valores de Ct >30 con una sensibilidad del 30,0 % (IC del 95 %: 6,7-65,3 %) para SARS-CoV-2. Como se sugiere en las referencias 7-9, los pacientes con valores de Ct >30 ya no son contagiosos.[7, 8, 9]

Resultados de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) para la prueba nasofaríngea de la gripe A

Gripe A		RT-PCR			Sensibilidad total (IC del 95 %)	Especificidad total (IC del 95 %)
		Positiva	Negativa	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Positiva	46	0	46	92,0 % (80,8-97,8 %)	100,0 % (98,2-100,0 %)
	Negativo	4	200	204		
	Total	50	200	250		

Resultados de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) para la prueba nasofaríngea de la gripe B

Gripe B		RT-PCR			Sensibilidad total (IC del 95 %)	Especificidad total (IC del 95 %)
		Positiva	Negativa	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Positiva	50	0	50	100,0 % (92,9-100,0 %)	100,0 % (98,2-100,0 %)
	Negativo	0	200	200		
	Total	50	200	250		

2. Límite de detección

El límite de detección de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) se determinó en las siguientes cepas de virus:

- 1,54 X 10^2 $TCID_{50}$/ml de SARSCoV-2 que se aisló de un paciente diagnosticado con COVID-19 en Corea.
- 4,07 X 10^2 $TCID_{50}$/ml de la cepa de gripe A H1N1/California/07/09.
- 1,14 X 10^2 $TCID_{50}$/ml de gripe A H3N2/Perth/16/09.
- 2,46 X 10^4 UI/ml de gripe B/Wisconsin/1/2010.

Estas cepas del virus de la gripe A se obtuvieron de ZeptoMetrix con información de los títulos. Las características de rendimiento del virus de la gripe A pueden variar según los subtipos, la región y el año de aparición, ya que los virus de la gripe A han sufrido cambios menores de aminoácidos en la región del epítopo diana.

3. Efecto gancho

No hay efecto de gancho en:

- 1,0 X $10^{5,8}$ $TCID_{50}$/ml con líquido de cultivo de SARS-CoV-2 que se aisló de un paciente diagnosticado con COVID-19 en Corea.
- 1,17 X 10^{5} $TCID_{50}$/ml con gripe A H1N1/California/07/09.
- 1,17 X 10^{5} $TCID_{50}$/ml con gripe A H3N2/Perth/16/09.
- 1,40 X 10^{7} UI/ml con gripe B/Wisconsin/1/2010.
- 5,0 X $10^{7,25}$ $TCID_{50}$/ml con gripe A H1N1/New Jersey/8/76.
- 3,40 X 10^{9} $TCID_{50}$/ml con gripe A/Denver/1/57.
- 5,0 X $10^{6,5}$ $TCID_{50}$/ml con gripe A/Hong Kong/8/68.

4. Reactividad cruzada

Se evaluó la reactividad cruzada de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) mediante el análisis (5 réplicas de cada uno) de 76 virus y otros 37 microorganismos. Tal como se esperaba, las cepas de gripe A humana reaccionaron con la línea de prueba de gripe A y no reaccionaron de forma cruzada con las líneas de prueba de gripe B o COVID-19. Tal como se esperaba, las cepas de gripe B humana reaccionaron con la línea de prueba de gripe B y no reaccionaron de forma cruzada con las líneas de prueba de gripe A o COVID-19. Las cepas de gripe no humana no reaccionaron con las líneas de prueba de gripe A, B o COVID-19. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) tiene reactividad cruzada con la nucleoproteína del coronavirus del SARS humano a una concentración de ≥200 pg/ml debido a que el SARS-CoV tiene una alta homología con el SARS-CoV-2 (79,6 %).

Virus analizados		
Nucleoproteína del SARS-CoV	Gripe A H1N1 (California/07/09)	Gripe A H1N1 (A/Beijing/262/1995)
Gripe A H1N1 (A/New Jersey/8/76)	Gripe A H1N1 (A/Denver/1/57)	Gripe H1N1 (A/Puerto Rico/8/34)
Gripe A H1N1 (A/FM/1/47)	Gripe H3N2 (A/Hong Kong/8/68)	Gripe A H3N2 (A/Victoria/3/75)
Gripe A H3N2 (A/Port Chalmers/1/73)	Gripe A H3N2 (Perth/16/09)	Gripe A H3N2 (Wisconsin/67/05)
Gripe A H5N1 (A/China/2006)	Gripe A H5N2 (A/gallina/Iowa/ 20/04/2015)*	Gripe A H7N1 (A/pavo/Italia/4602/99)*
Gripe A H7N2 (A/vuelvepiedras común/ New Jersey/563/2006)*	Gripe A H7N7 (A/gallina/ Países Bajos/1/03)*	Gripe B (B/Florida/78/2015, linaje Victoria)

Virus analizados		
Gripe B (B/Florida/4/2006, linaje Yamagata)	Gripe B (B/Maryland/1/59, linaje Victoria)	Gripe B (B/GL/1739/54)
Gripe B (B/Taiwán/2/62)	Gripe B (B/Malasia/2506/04, linaje Victoria)	Gripe B (B/Wisconsin/1/2010, linaje Yamagata)
Gripe A H1N1 (A/Wisconsin/588/2019)/ (A/Victoria/2570/2019)	Gripe A H3N2 (A/Camboya/ e0826360/2020)	Gripe B (B/Phuket/3073/2013, linaje Yamagata)
Gripe B (B/Washington/02/2019, linaje Victoria)		

*cepa de gripe no humana

No hubo reacción cruzada con los virus y microorganismos que se enumeran a continuación.

Virus analizados		
HCoV-HKU1	HCoV-NL63	HCoV-OC43
MERS-CoV	HCoV-229E	Adenovirus humano 1
Adenovirus humano 2	Adenovirus humano 3	Adenovirus humano 4
Adenovirus humano 5	Adenovirus 6	Adenovirus 7
Adenovirus 10	Adenovirus humano 18	Adenovirus 21
Norovirus	Virus de Epstein-Barr	Virus del herpes humano (VHS) 1
Virus del herpes humano (VHS) 2	Citomegalovirus humano	Virus de las paperas
Virus de parainfluenza tipo 4A	Virus de parainfluenza tipo 4B	Parainfluenza tipo 1
Parainfluenza tipo 2	Parainfluenza tipo 3	Virus respiratorio sincitial humano A
Virus respiratorio sincitial humano B	Virus del sarampión	hMPV 16 tipo A1
Rinovirus humano tipo 1B	Rinovirus tipo A2	Rinovirus humano 14
Rinovirus A16	Rotavirus A	Virus Sendai
Virus de la rubéola	Virus de Coxsackie A9	Virus de Coxsackie B4
Virus de Coxsackie B5	Echovirus humano 2	Echovirus humano 6
Echovirus 7	Echovirus 11	Enterovirus humano 71
Poliovirus 1	Enterovirus D68	

Microorganismos analizados		
Bordetella pertussis	*Mycobacterium avium*	*Staphylococcus epidermidis*
Candida albicans	*Mycobacterium tuberculosis*	*Staphylococcus haemolyticus*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus faecalis	*Neisseria lactamica*	*Streptococcus pneumoniae*
Escherichia coli	*Neisseria gonorrhoeae*	*Streptococcus pyogenes*
Fusobacterium necrophorum	*Neisseria meningitidis*	*Streptococcus salivarius*
Haemophilus influenzae	*Neisseria sp. (Neisseria lactamica)*	*Streptococcus anginosus*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus vulgaris*	*Pneumocytis jirovecci (PJP)*
Legionella pneumophila	*Pseudomonas aeruginosa*	*Lavado nasal humano agrupado*
Moraxella catarrhalis	*Corynebacterium diphtheriae*	*Enterococcus faecium*
Lactobacillus plantarum	*Neisseria sicca*	*Streptococcus agalactiae*
Streptococcus bovis	*Streptococcus oralis*	*Arcanobacterium haemolyticum*
Staphylococcus aureus		

5. Sustancias interferentes

Las siguientes 53 sustancias potencialmente interferentes (5 réplicas de cada una) no tienen ningún impacto en Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) con la excepción de la albúmina en concentraciones >55 g/l.

Tipo	Sustancias analizadas			
Endógenas	Mucina	Sangre humana	Bilirrubina	Anticuerpo antinuclear (ANA)
	Lípido en sangre	Hemoglobina	Factor reumatoideo	Anticuerpo humano anti-ratón
	Albúmina	Mometasona	Lopinavir	Ácido acetilsalicílico
Exógenas	Fenilefrina	Fluticasona	Ritonavir	Ibuprofeno
	Oximetazolina	Clorfeniramina	Arbidol	Azufre
	Cloruro de sodio	Difenhidramina	Levofloxacina	Luffa operculata
	Aerosol nasal (NasalCrom)	Diclorhidrato de histamina	Azitromicina	Benzocaína
	Aerosol nasal (Equate)	Histamina	Meropenem	Mentol
	Beclometasona	Galphimia glauca	Tobramicina	Paracetamol
	Dexametasona	Histaminum hydrochloricum	Mupirocina	Enjuague bucal (Crest)
	Flunisolida	Zanamivir	Albuterol	Enjuague bucal (Listerine)
	Acetónido de triamcinolona	Ribavirina (Rebetol)	Efedrina	Enjuague bucal (Therabreath)
	Budesonida	Tamiflu (oseltamivir)	Gliceril guayacol éter	Heparina
	Fenilpropanolamina			

6. Repetibilidad y reproducibilidad

La repetibilidad y reproducibilidad de Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) se estableció utilizando 3 muestras positivas (moderada, débil, concentración de proximidad del límite de detección) por cada cepa (SARS-CoV-2, gripe A H1N1, gripe A H3N2 y gripe B) y muestra negativa. No se observaron diferencias intraseriales, interseriales, interlotes, intersitios ni interdiarias.

PREPARACIÓN

1 Cuando se almacenan en un refrigerador, todos los componentes del kit deben llevarse a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) durante un mínimo de 30 minutos antes de realizar la prueba. No abra la bolsa mientras los componentes estén alcanzando la temperatura ambiente.

Nota: Los profesionales sanitarios deben cumplir las pautas de seguridad personal, incluido el uso de un equipo de protección personal.

---

2 **Abra el envase y busque lo siguiente:**

1. Un dispositivo de prueba con desecante en una bolsa de papel de aluminio individual
2. Un tubo de tampón de extracción en una bolsa de papel de aluminio
3. Un tapón para la boquilla
4. Hisopo nasofaríngeo esterilizado para la recogida de muestras
5. Una gradilla para tubos
6. Instrucciones de uso con guía de consulta rápida

---

3 Lea atentamente estas instrucciones antes de usar Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP).

---

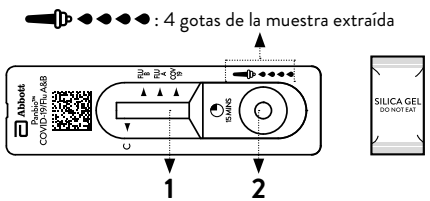
4 Busque la fecha de caducidad en la caja del kit. Si la fecha de caducidad ha vencido, escoja otro kit.

---

5 **Abra la bolsa de papel de aluminio del dispositivo de prueba y busque lo siguiente:**

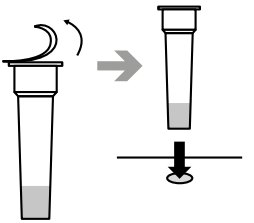
1. Ventana de resultados.
2. Pocillo de la muestra

Luego, etiquete el dispositivo con el identificador del paciente.

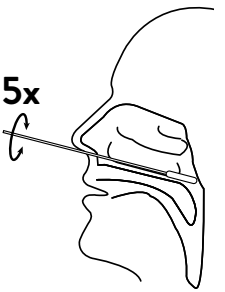


PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

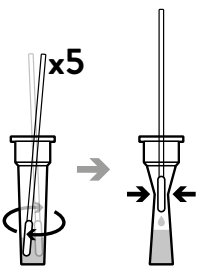
1 Mantenga el tubo de tampón de extracción en posición vertical y retire la lámina. Coloque el tubo de tampón de extracción en la gradilla de tubos.



2 Incline la cabeza del paciente hacia atrás (aproximadamente de 45° a 70°). Introduzca el hisopo a través de la fosa nasal de forma paralela al paladar. Frote y gire suavemente el hisopo 5 veces. Deje el hisopo en esta posición durante varios segundos. Retire lentamente el hisopo.



3 Introduzca la muestra de hisopo en el tubo de tampón de extracción. Gire la punta del hisopo en el líquido del tampón dentro del tubo del tampón de extracción empujando hacia la pared del tubo al menos cinco veces y, a continuación, exprima el hisopo apretando el tubo con los dedos.

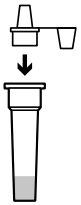


4 Deseche el hisopo usado de acuerdo con las regulaciones locales y el protocolo de eliminación de desechos de riesgo biológico.



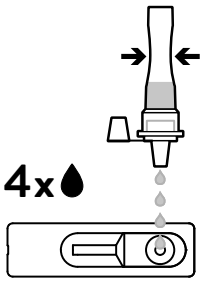
PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

5 Presione el tapón de la boquilla firmemente sobre el tubo de solución tampón de extracción.



6 Dispense 4 gotas de la muestra extraída verticalmente en el pocillo de la muestra en el dispositivo.

⚠ **Precaución:** No manipule ni mueva el dispositivo de prueba hasta que la prueba haya finalizado y esté lista para su lectura.



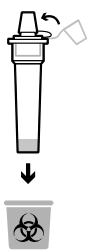
7 Inicie el temporizador. Lea el resultado a los 15 minutos.

No lea el resultado pasados 20 minutos.

Nota: Es posible que aparezca una línea de control («C») en la ventana de resultados en unos minutos, pero una línea de prueba («FLU B», «FLU A» y «COV 19») puede tardar hasta 15 minutos en aparecer.



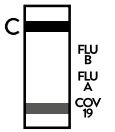
8 Cierre la boquilla con el tapón y deseche el tubo de tampón de extracción de acuerdo con las normativas locales y el protocolo de eliminación de residuos de riesgo biológico.



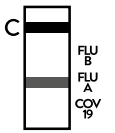
INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

POSITIVO

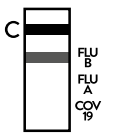
- **Positivo para COVID-19:** presencia de dos líneas de color (línea de prueba «COV 19» y línea de control «C») dentro de la ventana de resultados.



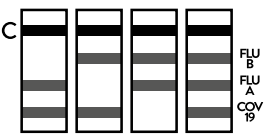
- **Positivo para gripe A:** presencia de dos líneas de color (línea de prueba «FLU A» y línea de control «C») dentro de la ventana de resultados.



- **Positivo para gripe B:** presencia de dos líneas de color (línea de prueba «FLU B» y línea de control «C») dentro de la ventana de resultados.



- **Múltiples positivos:** presencia de tres o cuatro líneas de color (línea de prueba «FLU B», «FLU A» y «COV 19» y línea de control «C») dentro de la ventana de resultados.



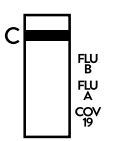
⚠ **Precaución:** La presencia de cualquier línea de prueba («FLU B», «FLU A» y «COV 19»), sin importar lo débil que sea, indica un resultado positivo.

Nota: En el caso de múltiples positivos, el usuario debe ser consciente de esta situación única, ya que ambos pueden estar presentes con síntomas similares pero variar en el tratamiento.

Tenga en cuenta que la prueba proporciona resultados preliminares de análisis.

NEGATIVO

La presencia única de la línea de control («C») y ninguna línea de prueba («FLU B», «FLU A» y «COV 19») en la ventana de resultados indica un resultado negativo.

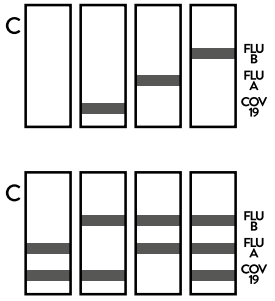


INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

INVÁLIDO

Si la línea de control («C») no está visible en la ventana de resultados después de realizar la prueba, el resultado no se considera válido (aunque la línea de prueba puede ser visible).

Es posible que las instrucciones no se hayan seguido correctamente. Se recomienda esperar 4 horas, leer de nuevo las instrucciones de uso, recolectar una nueva muestra y volver a realizar la prueba utilizando un nuevo dispositivo de prueba.



---

9 Deseche el dispositivo usado de acuerdo con las regulaciones locales y el protocolo de eliminación de desechos de riesgo biológico.



ESPAÑOL - LATAM

Sobre o teste

PT

Introdução

A doença do coronavírus (COVID-19) é uma doença infecciosa causada por um coronavírus recentemente descoberto, o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2).[1] O SARS-CoV-2 é um β-coronavírus, que é um vírus RNA de sentido positivo não segmentado encapsulado.[2] É disseminado por transmissão de humano para humano através de gotículas ou contato direto. Com base na investigação epidemiológica atual, o período de incubação é de 1 a 14 dias, normalmente de 3 a 7 dias. Entre os pacientes com pneumonia causada pelo SARS-CoV-2, a febre foi o sintoma mais comum, seguida pela tosse.[3]
A Influenza, comumente chamada de "gripe", é uma doença infecciosa causada pelo vírus da gripe.[4] Os sintomas variam de leves a graves e frequentemente incluem febre, coriza, dor de garganta, dor muscular, dor de cabeça, tosse e fadiga. Esses sintomas normalmente começam de 1 a 4 dias após a exposição ao vírus e duram cerca de 2 a 8 dias.[5]

Princípio do teste

O Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal) contém uma tira de membrana, que é pré-revestida com anticorpos anti-SARS-CoV-2, antigripe A e antigripe B imobilizados na linha de teste e IgY aviário monoclonal de camundongo na linha de controle. Quatro tipos de conjugados de ouro (conjugados de ouro de anticorpos monoclonais específicos para SARS-CoV-2, gripe A e gripe B e conjugados de ouro de IgY aviário) se movem cromatograficamente para cima na membrana e reagem com anticorpos anti-SARS-CoV-2, antigripe A, antigripe B e anticorpos monoclonais IgY aviários de camundongo pré-cobertos, respectivamente. Em um resultado positivo, cada agente patogênico do SARS-CoV-2, gripe A e gripe B formará uma linha de teste na janela de resultados. Nem a linha de teste nem a linha de controle são visíveis na janela de resultados antes da aplicação da amostra do paciente. É necessária uma linha de controle visível para indicar que um resultado de teste é válido.

Uso pretendido

O Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) é um teste rápido de diagnóstico *in vitro* para a detecção qualitativa do antígeno (Ag) SARS-CoV-2 e gripe A e B em amostras de esfregaço nasofaríngeo humano de indivíduos que atendem aos critérios clínicos e/ou epidemiológicos de COVID-19 e/ou gripe.

O Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) é para uso profissional e destina-se a ser usado como auxílio no diagnóstico de infecção por SARS-CoV-2 e gripe. O produto pode ser utilizado em ambiente laboratorial ou não.

O teste fornece resultados preliminares. Resultados negativos não excluem infecção por SARS-CoV-2 e gripe A e B, e não podem ser usados como a única base para tratamento ou outra decisão de controle. Os resultados negativos devem ser combinados com observações clínicas, histórico do paciente e informações epidemiológicas.

Materiais fornecidos

- 10 dispositivos de teste com dessecante em envelopes individuais de papel alumínio
- 10 tubos de tampão de extração em um envelope de papel alumínio
- 10 tampas de bocal
- 10 cotonetes nasofaríngeos esterilizados para coleta de amostras
- 1 suporte para tubos
- 1 Instruções de uso com Guia de referência rápida

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Equipamento de proteção individual, de acordo com a recomendação local (por exemplo, bata/jaleco, máscara facial, escudo facial/óculos de proteção e luvas)
- Cronômetro
- Recipiente para material de risco biológico

Ingredientes ativos dos principais componentes

- Dispositivo de teste
  Conjugado de ouro: anticorpos monoclonais para SARS-CoV-2 Ag, antigripe A Ag e B Ag — ouro coloidal e IgY aviário — ouro coloidal, linha de teste: monoclonal anti-SARS-CoV-2 de camundongo, monoclonal antigripe A de camundongo e fragmento antigripe B de ligação antigênica, linha de controle: monoclonal IgY aviário de camundongo
- Tampão: Tricina, cloreto de sódio, Tween 20, Tergitol 15-S-9, azida de sódio (<0,1%)

Armazenamento e estabilidade do kit de teste

1. O kit de teste deve ser armazenado a uma temperatura entre 2 e 30 °C. Não congele o kit ou seus componentes.
2. Quando armazenados em um refrigerador, todos os componentes do kit devem ser levados à temperatura ambiente (15 a 30 °C) por um mínimo de 30 minutos antes da realização do teste. Não abra o envelope enquanto os componentes alcançam a temperatura ambiente.
3. Realize o teste imediatamente após remover o dispositivo de teste do envelope de papel alumínio.
4. Não utilize o kit de teste após sua data de validade.
5. O prazo de validade do kit é indicado na embalagem externa.
6. Não utilize o kit de teste se o envelope estiver danificado ou se o lacre estiver violado.
7. As amostras de esfregaço direto devem ser testadas imediatamente após a coleta. Se não for possível realizar o teste imediatamente, a amostra do esfregaço pode ser mantida em um tubo de tampão de extração preenchido com solução tampão à temperatura ambiente (15 a 30 °C) por até 2 horas antes do teste.

Avisos

1. Somente para uso em diagnóstico *in vitro*. Não reutilizar o dispositivo de teste e os componentes do kit.
2. Para obter resultados precisos, estas instruções devem ser estritamente seguidas por um profissional de saúde treinado. Todos os usuários precisam ler as instruções antes de realizar o teste.
3. Não consuma alimentos ou fume ao manusear as amostras.
4. Use luvas de proteção ao manusear as amostras e lave bem as mãos depois.
5. Evite salpicos ou formação de aerossóis da amostra e da solução tampão.
6. Limpe completamente derramamentos usando um desinfetante apropriado.
7. Descontamine e descarte todas as amostras, kits de reação e materiais possivelmente contaminados (ou seja, cotonete, tubo de tampão de extração, dispositivo de teste) em um recipiente de risco biológico como se fossem resíduos infecciosos e descarte-os de acordo com os regulamentos locais aplicáveis.
8. Não misture ou troque diferentes amostras.
9. Não misture reagentes com os de outros produtos.
10. Não armazene o kit de teste sob luz direta do sol.
11. Para evitar contaminação, não toque na cabeça do cotonete fornecido ao abrir o envelope deste.
12. Os cotonetes esterilizados devem ser usados somente para coleta de amostras nasofaríngeas.
13. Para evitar contaminação cruzada, não reutilize os cotonetes para coleta de amostras.
14. Não dilua o esfregaço coletado com nenhuma solução, exceto o tampão fornecido.
15. O tampão contém <0,1% de azida de sódio como conservante, que pode ser tóxico, se ingerido. Quando descartado em uma pia, enxágue com um grande volume de água.[6]

Procedimento de teste (consulte as figuras)

Amostras de esfregaço nasofaríngeo

Observação: Os profissionais de saúde devem cumprir as diretrizes de segurança pessoal, incluindo o uso de equipamentos de proteção individual.

Preparação do teste

1. Quando armazenados em um refrigerador, todos os componentes do kit devem ser levados à temperatura ambiente (15 a 30 °C) por um mínimo de 30 minutos antes da realização do teste. Não abra o envelope enquanto os componentes alcançam a temperatura ambiente.
2. Remova o dispositivo de teste do envelope de papel alumínio. Coloque-o sobre uma superfície plana, horizontal e limpa.
3. Segure o frasco de tampão de extração na vertical e remova a tampa de papel alumínio. Coloque o tubo de tampão de extração no suporte de tubos.

Coleta e extração de amostras nasofaríngeas

1. Incline a cabeça do paciente ligeiramente para trás, cerca de 45° a 70°, para endireitar a passagem da frente do nariz.
2. Insira o cotonete através da narina, paralelamente ao palato.
   ⚠ **Cuidado:** Use o cotonete nasofaríngeo para a coleta de amostras, fornecido no kit.
3. O cotonete deve atingir profundidade igual à distância entre as narinas e a abertura externa da orelha.
   ⚠ **Cuidado:** Se for encontrada resistência durante a inserção do cotonete, remova-o e tente inseri-lo na narina oposta.
4. Esfregue e gire o cotonete suavemente por 5 vezes. Deixe o cotonete no lugar por vários segundos para absorver as secreções.
5. Remova lentamente o cotonete enquanto o gira e, em seguida, insira-o no tubo de tampão de extração.
6. Enrole a ponta do cotonete na solução tampão dentro do tubo de tampão de extração, empurrando contra a parede do tubo pelo menos cinco vezes e, em seguida, esprema o cotonete, espremendo o tubo de tampão de extração com seus dedos.
7. Descarte o cotonete de acordo com os regulamentos locais e com o protocolo de descarte de resíduos de risco biológico.
8. Pressione firmemente a tampa do bocal no tubo de tampão de extração.

Reação com dispositivo de teste

1. Dispense verticalmente 4 gotas da amostra extraída no poço de amostra no dispositivo.
   ⚠ **Cuidado:** Não manuseie ou mova o dispositivo até que o teste esteja concluído e pronto para leitura.
2. Inicie o cronômetro. Leia o resultado em 15 minutos. Não leia o resultado antes de 15 minutos ou após 20 minutos.
3. Feche o bocal usando a tampa e descarte o tubo de tampão de extração de acordo com os regulamentos locais e o protocolo de descarte de lixo biológico.
4. Descarte o dispositivo usado de acordo com os regulamentos locais e com o protocolo de descarte de lixo biológico.

Limitações do teste

1. O conteúdo deste kit deve ser usado para a coleta profissional e para a detecção qualitativa dos antígenos SARS-CoV-2 e gripe A e B de esfregaço nasofaríngeo. Outros tipos de amostras podem levar a resultados incorretos e não devem ser utilizados.
2. O não cumprimento das instruções de procedimento de teste e o erro na interpretação dos resultados do teste podem afetar negativamente o desempenho deste e/ou produzir resultados inválidos.

3. Poderá ser obtido um resultado negativo do teste se a amostra for coletada, extraída ou transportada de forma inadequada. Um resultado negativo no teste não elimina a possibilidade de infecção pelo SARS-CoV-2 e gripe A e B, e deve ser confirmado por cultura viral ou por um ensaio molecular.
4. Um resultado positivo no teste não rejeita a possibilidade de coinfecções por outros agentes patogênicos.
5. Os resultados dos testes devem ser avaliados em conjunto com outros dados clínicos disponíveis para o médico.
6. A leitura dos resultados do teste antes de 15 minutos ou depois de 20 minutos pode fornecer resultados incorretos.
7. O Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) não se destina à detecção de vírus defeituosos (não infecciosos) durante os estágios posteriores de disseminação viral que possam ser detectados por testes moleculares por PCR.[7]
8. Podem ser obtidos resultados positivos em casos de infecção com SARS-CoV ou albumina.
9. O Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) não foi avaliado para as seguintes estirpes de gripe, como referenciado pela diretriz da OMS: A/Darwin/9/2021 (H3N2), B/Austria/1359417/2021.
10. Espere 4 horas antes de repetir o teste depois de um resultado inválido.
11. O desempenho clínico foi avaliado com amostras congeladas e o desempenho dos testes pode ser diferente com amostras frescas.

Controle de qualidade

Controles de procedimento

O dispositivo de teste tem uma linha de controle ("C") e linhas de teste ("FLU B", "FLU A", "COV 19") em sua superfície. Nem a linha de teste nem a linha de controle são visíveis na janela de resultados antes da aplicação da amostra. A linha de controle é usada para controle de procedimentos e deverá sempre aparecer se o procedimento de teste for executado corretamente e os reagentes de teste da linha de controle estiverem funcionando.

Controles externos

As boas práticas de laboratório recomendam o uso de materiais de controle externo. Os usuários devem seguir as diretrizes federais, estaduais e municipais relativas à frequência dos testes de controle externo. Os controles positivos específicos podem ser encomendados pelo seguinte número de catálogo: 62FK11C.

Características de desempenho

1. Desempenho clínico com amostra nasofaríngea de Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)

O Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) foi projetado para coleta de amostras nasofaríngeas de uma narina. O desempenho do

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) foi estabelecido com esfregaços nasofaríngeos testados na Coreia do Sul em setembro de 2021 usando 100 amostras positivas para COVID-19, 50 positivas para gripe A, 50 positivas para gripe B e 200 amostras negativas para antígeno de COVID-19 e de gripe A e B.

Foram coletadas amostras de sujeitos que apresentavam sintomas de gripe A e B e/ou COVID-19. Uma amostra foi coletada para testes com Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) e outra para PCR. Os esfregaços foram coletados e extraídos em meio de transporte viral. As amostras foram congeladas após a coleta e descongeladas antes dos testes. O desempenho do Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) foi avaliado em comparação com um método de RT-PCR com certificação da CE.

O estudo mostrou uma sensibilidade de 88,0% (95% IC: 80,0 a 93,6%) e especificidade de 100,0% (95% IC: 98,2 a 100,0%) para SARS-CoV-2; sensibilidade de 92,0% (95% IC: 80,8 a 97,8%) e sensibilidade de 100,0% (95% IC: 98,2 a 100,0%) para gripe A, e sensibilidade de 100,0% (95% IC: 92,9 a 100,0%) e especificidade de 100,0% (95% IC: 98,2 a 100,0%) para gripe B.

Resultados do Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) para NF de COVID-19

SARS-CoV-2		RT-PCR			Sensibilidade geral (95% IC)	Especificidade geral (95% IC)
		Positivo	Negativo	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	**Positivo**	88	0	88	88,0% (80,0 a 93,6%)	100,0% (98,2 a 100,0%)
	Negativo	12	200	212		
	Total	100	200	300		

- A concordância positiva do Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) é maior com amostras de valores Ct ≤30 com sensibilidade de 94,4% (95% IC:87,5 a 98,3%) e menor com amostras de valores Ct >30 com sensibilidade de 30,0% (95% IC:6,7 a 65,3%) para SARS-CoV-2. Como sugerido nas referências de 7 a 9, pacientes com valores Ct >30 não são mais contagiosos.[7, 8, 9]

Resultados para gripe A por NF do Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)

Gripe A		RT-PCR			Sensibilidade geral (95% IC)	Especificidade geral (95% IC)
		Positivo	Negativo	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Positivo	46	0	46	92,0% (80,8 a 97,8%)	100,0% (98,2 a 100,0%)
	Negativo	4	200	204		
	Total	50	200	250		

Resultados para gripe B por NF do Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)

Gripe B		RT-PCR			Sensibilidade geral (95% IC)	Especificidade geral (95% IC)
		Positivo	Negativo	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Positivo	50	0	50	100,0% (92,9 a 100,0%)	100,0% (98,2 a 100,0%)
	Negativo	0	200	200		
	Total	50	200	250		

2. Limite de detecção

O limite de detecção do Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) foi determinado com base nas seguintes estirpes de vírus:

- $1{,}54 \times 10^2$ $TCID_{50}$/ml de SARS-CoV-2, que foi isolado de um paciente com confirmação de COVID-19 na Coreia do Sul.
- $4{,}07 \times 10^2$ $TCID_{50}$/ml da estirpe de gripe A H1N1/California/07/09.
- $1{,}14 \times 10^2$ $TCID_{50}$/ml de gripe A H3N2/Perth/16/09.
- $2{,}46 \times 10^4$ IU/ml de gripe B/Wisconsin/1/2010.

Essas estirpes virais da gripe A foram obtidas da ZeptoMetrix com informações de carga viral. As características de desempenho do vírus da gripe A podem variar dependendo dos subtipos, região e ano de ocorrência, uma vez que esse vírus sofreu pequenas mudanças de aminoácidos na região do epitopo-alvo.

3. Efeito gancho

Não há efeito gancho em:

- $1{,}0 \times 10^{5,8}$ $TCID_{50}$/ml com fluido de cultura de SARS-CoV-2, que foi isolado de um paciente com confirmação de COVID-19 na Coreia do Sul.
- $1{,}17 \times 10^5$ $TCID_{50}$/ml com gripe A H1N1/California/07/09.
- $1{,}17 \times 10^5$ $TCID_{50}$/ml com gripe A H3N2/Perth/16/09.
- $1{,}40 \times 10^7$ IU/ml com gripe B/Wisconsin/1/2010.

- 5,0 X $10^{7,25}$ $TCID_{50}$/ml com gripe A H1N1//New Jersey/8/76.
- 3,40 X 10^{9} $TCID_{50}$/ml com gripe A/Denver/1/57.
- 5,0 X $10^{6,5}$ $TCID_{50}$/ml com gripe A/Hong Kong/8/68.

4. Reatividade cruzada

A reatividade cruzada do COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) foi avaliada por meio de testes de 76 vírus e 37 outros micro-organismos (5 réplicas de cada). As estirpes da gripe A humana, como esperado, reagiram com a linha de teste de gripe A e não apresentaram reação cruzada com as linhas de teste de gripe B ou COVID-19. As estirpes da gripe B humana, como esperado, reagiram com a linha de teste de gripe B e não apresentaram reação cruzada com as linhas de teste de gripe A ou COVID-19. As estirpes de gripe não humana não reagiram com as linhas de teste de gripe A, B ou COVID-19. O Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) apresenta reatividade cruzada com a nucleoproteína do SARS-coronavírus humano em uma concentração de ≥200 pg/ml, uma vez que o SARS-CoV possui uma alta homologia com o SARS-CoV-2 (79,6%).

Vírus testados		
Nucleoproteína de SARS-CoV	Gripe A H1N1 (California/07/09)	Gripe A H1N1 (A/Beijing/262/1995)
Gripe A H1N1 (A/New Jersey/8/76)	Gripe A H1N1 (A/Denver/1/57)	Gripe H1N1 (A/Puerto Rico/8/34)
Gripe A H1N1 (A/ FM/1/47)	Gripe H3N2 (A/Hong Kong/8/68)	Gripe A H3N2 (A/Victoria/3/75)
Gripe A H3N2 (A/Port Chalmers/1/73)	Gripe A H3N2 (Perth/16/09)	Gripe A H3N2 (Wisconsin/67/05)
Gripe A H5N1 (A/China/2006)	Gripe A H5N2 (A/aviária/ Iowa/04-20/2015)*	Gripe A H7N1 (A/peru/Itália/4602/99)*
Gripe A H7N2 (A/vira-pedras/ New Jersey/563/2006)*	Gripe A H7N7 (A/aviária/ Holanda/1/03)*	Gripe B (B/Florida/78/2015, linhagem Victoria)
Gripe B (B/Florida/4/2006, linhagem Yamagata)	Gripe B (B/Maryland/1/59, linhagem Victoria)	Gripe B (B/GL/1739/54)
Gripe B (B/Taiwan/2/62)	Gripe B (B/Malásia/2506/04, linhagem Victoria)	Gripe B (B/Wisconsin/1/2010, linhagem Yamagata)
Gripe A H1N1 (A/Wisconsin/588/2019)/ (A/Victoria/2570/2019)	Gripe A H3N2 (A/Camboja/ e0826360/2020)	Gripe B (B/Phuket/3073/2013, linhagem Yamagata)
Gripe B (B/Washington/02/2019, linhagem Victoria)		

* estirpe de gripe não humana

Não houve reações cruzadas com os vírus e micro-organismos listados abaixo.

Vírus testados		
HCoV-HKU1	HCoV-NL63	HCoV-OC43
MERS-CoV	HCoV-229E	Adenovírus humano 1
Adenovírus humano 2	Adenovírus humano 3	Adenovírus humano 4
Adenovírus humano 5	Adenovírus 6	Adenovírus 7
Adenovírus 10	Adenovírus humano 18	Adenovírus 21
Norovírus	Vírus Epstein-Barr (VEB)	Herpesvírus humano (HSV) 1
Herpesvírus humano (HSV) 2	Citomegalovírus humano	Vírus da caxumba
Vírus parainfluenza tipo 4A	Vírus parainfluenza tipo 4B	Parainfluenza tipo 1
Parainfluenza tipo 2	Parainfluenza tipo 3	VSR humano A
VSR humano B	Vírus do sarampo	hMPV 16 tipo A1
Rinovírus humano tipo 1B	Rinovírus tipo A2	Rinovírus humano 14
Rinovírus A16	Rotavírus A	Vírus Sendai
Vírus da rubéola	Vírus de Coxsackie A9	Vírus de Coxsackie B4
Vírus de Coxsackie B5	Echovirus humano 2	Echovirus humano 6
Echovirus 7	Echovirus 11	Enterovírus humano 71
Poliovírus 1	Enterovírus D68	

Micro-organismos testados		
Bordetella pertussis	*Mycobacterium avium*	*Staphylococcus epidermidis*
Candida albicans	*Mycobacterium tuberculosis*	*Staphylococcus haemolyticus*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus faecalis	*Neisseria lactamica*	*Streptococcus pneumoniae*
Escherichia coli	*Neisseria gonorrhoeae*	*Streptococcus pyogenes*
Fusobacterium necrophorum	*Neisseria meningitidis*	*Streptococcus salivarius*
Haemophilus influenzae	*Neisseria sp. (Neisseria lactamica)*	*Streptococcus anginosus*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus vulgaris*	*Pneumocytis jirovecci (PJP)*
Legionella pneumophila	*Pseudomonas aeruginosa*	*Lavagem nasal humana conjunta*
Moraxella catarrhalis	*Corynebacterium diphtheriae*	*Enterococcus faecium*
Lactobacillus plantarum	*Neisseria sicca*	*Streptococcus agalactiae*
Streptococcus bovis	*Streptococcus oralis*	*Arcanobacterium haemolyticum*
Staphylococcus aureus		

5. Substâncias interferentes

As 53 substâncias potencialmente interferentes a seguir (5 réplicas de cada) não têm impacto no Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP), com exceção de albumina em concentrações >55 g/L.

Tipo	Substâncias testadas			
Endógeno	Mucina	Sangue humano	Bilirrubina	Anticorpo antinuclear (ANA)
	Lipídios sanguíneos	Hemoglobina	Fator reumatoide	Anticorpo humano anticamundongo
	Albumina	Mometasona	Lopinavir	Ácido acetilsalicílico
Exógeno	Fenilefrina	Fluticasona	Ritonavir	Ibuprofeno
	Oximetazolina	Clorfeniramina	Arbidol	Enxofre (Sulfur)
	Cloreto de sódio	Difenidramina	Levofloxacino	Luffa opperculata
	Spray nasal (NasalCrom)	Dicloridrato de histamina	Azitromicina	Benzocaína
	Spray nasal (Equate)	Histamina	Meropenem	Mentol
	Beclometasona	Galphimia glauca	Tobramicina	Paracetamol
	Dexametasona	Histaminum hydrochloricum	Mupirocina	Enxaguante bucal (Crest)
	Flunisolida	Zanamivir	Albuterol	Enxaguante bucal (Listerine)
	Triancinolona acetonida	Ribavirin (Rebetol)	Efedrina	Enxaguante bucal (Therabreath)
	Budesonida	Tamiflu (Oseltamivir)	Éter glicerílico do guaiacol	Heparina
	Fenilpropanolamina			

6. Repetibilidade e reprodutibilidade

A repetibilidade e a reprodutibilidade do Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) foram estabelecidas usando três amostras positivas (moderada, fraca, concentração próxima ao limite de detecção) para cada estirpe (SARS-CoV-2, gripe A H1N1, gripe A H3N2 e gripe B) e amostras negativas. Não foram observadas diferenças intraensaio, interensaio, interlote, interlaboratorial e interdia.

PREPARAÇÃO

1 Quando armazenados em um refrigerador, todos os componentes do kit devem ser levados à temperatura ambiente (15 a 30 °C) por um mínimo de 30 minutos antes da realização do teste. Não abra o envelope enquanto os componentes alcançam a temperatura ambiente.

Observação: Os profissionais de saúde devem cumprir as diretrizes de segurança pessoal, incluindo o uso de equipamentos de proteção individual.

---

2 **Abra o pacote e procure pelo seguinte:**

1. Dispositivo de teste com dessecante em envelope individual de papel alumínio
2. Tubo de tampão de extração em um envelope de papel alumínio
3. Tampa do bocal
4. Cotonete nasofaríngeo esterilizado para coleta de amostras
5. Suporte para tubos
6. Instruções de uso com Guia de referência rápida

---

3 Leia atentamente as instruções antes de utilizar o Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP).

---

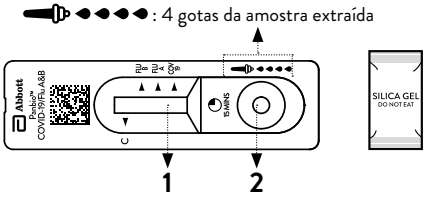
4 Confira a data de validade na caixa do kit. Se o prazo de validade estiver expirado, selecione outro kit para uso.

---

5 **Abra o envelope de papel alumínio do dispositivo de teste e procure pelo seguinte:**

1. Janela de resultados
2. Poço para amostra

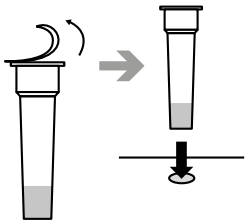
Em seguida, rotule o dispositivo com o identificador do paciente.



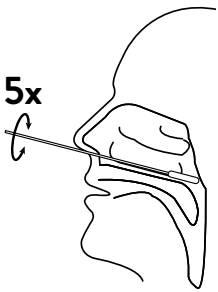
PORTUGUÊS - BRASILEIRO

PROCEDIMENTO DE TESTE

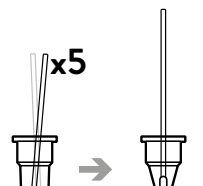
1 Segure o frasco de tampão de extração na vertical e remova a tampa de papel alumínio. Coloque o tubo de tampão de extração no suporte de tubos.



2 Incline a cabeça do paciente para trás (cerca de 45° a 70°). Insira o cotonete através da narina. Esfregue e gire o cotonete suavemente por 5 vezes. Deixe o cotonete no lugar por vários segundos. Retire o cotonete lentamente.



3 Insira a amostra do esfregaço no tubo de tampão de extração. Enrole a ponta do cotonete na solução tampão dentro do tubo de tampão de extração, empurrando contra a parede do tubo pelo menos cinco vezes e, em seguida, esprema o cotonete, espremendo o tubo de tampão de extração com seus dedos.

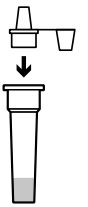


4 Descarte o cotonete de acordo com os regulamentos locais e com o protocolo de descarte de resíduos de risco biológico.



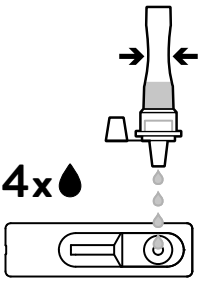
PROCEDIMENTO DE TESTE

5 Pressione firmemente a tampa do bocal no tubo de tampão de extração.



6 Dispense verticalmente 4 gotas da amostra extraída no poço de amostra no dispositivo.

⚠ **Cuidado:** Não manuseie ou mova o dispositivo até que o teste esteja concluído e pronto para leitura.



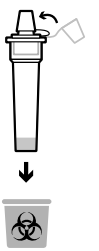
7 Inicie o cronômetro. Leia o resultado em 15 minutos.

Não leia o resultado após 20 minutos.

Observação: Uma linha de controle ("C") pode aparecer na janela de resultados em poucos minutos, mas uma linha de teste ("FLU B", "FLU A", "COV 19") pode demorar até 15 minutos para aparecer.



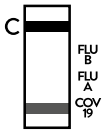
8 Feche o bocal usando a tampa e descarte o tubo de tampão de extração de acordo com os regulamentos locais e o protocolo de descarte de lixo biológico.



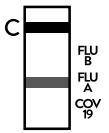
INTERPRETAÇÃO DO TESTE

POSITIVO

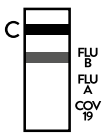
- **COVID-19 positivo:** presença de duas linhas coloridas (linha de teste "COV 19" e linha de controle "C") dentro da janela de resultados.



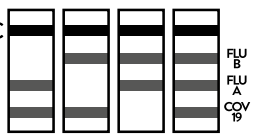
- **Gripe A positivo:** presença de duas linhas coloridas (linha de teste "FLU A" e linha de controle "C") dentro da janela de resultados.



- **Gripe B positivo:** presença de duas linhas coloridas (linha de teste "FLU B" e linha de controle "C") dentro da janela de resultados.



- **Multipositivos:** presença de três ou quatro linhas coloridas (linha de teste "FLU B", "FLU A", "COV 19" e linha de controle "C") dentro da janela de resultados.



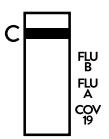
⚠ **Cuidado:** A presença de qualquer linha de teste ("FLU B", "FLU A", "COV 19"), por mais tênue que seja, indica um resultado positivo.

Observação: No caso de multipositivos, o usuário deve estar ciente dessa situação única, pois as doenças podem apresentar sintomas semelhantes, mas variam no tratamento.

Observe que o teste fornece resultados preliminares.

NEGATIVO

A presença apenas da linha de controle ("C") e nenhuma linha de teste ("FLU B", "FLU A" ou "COV 19") dentro da janela de resultados indica um resultado negativo.

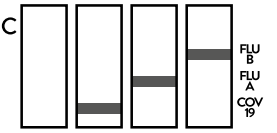


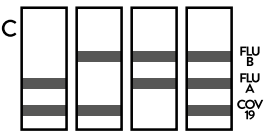
INTERPRETAÇÃO DO TESTE

INVÁLIDO

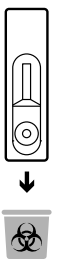
Se a linha de controle (“C”) não estiver visível na janela de resultados após a realização do teste, o resultado será considerado inválido (mesmo que a linha de teste esteja visível).

As instruções podem não ter sido seguidas corretamente. Recomenda-se ler as instruções de uso mais uma vez antes de testar novamente a amostra com um novo dispositivo de teste 4 horas depois.





9 Descarte o dispositivo usado de acordo com os regulamentos locais e com o protocolo de descarte de lixo biológico.



Despre test

RO

Introducere

Boala coronavirus (COVID-19) este o boală infecțioasă cauzată de un coronavirus nou descoperit, sindromul respirator acut sever coronavirus 2 (SARS-CoV-2).[1] SARS-CoV-2 este un β-coronavirus, care este un virus ARN încapsulat, cu sens pozitiv, nesegmentat.[2] Este răspândit prin transmitere de la om la om prin picături sau contact direct. Pe baza investigației epidemiologice actuale, perioada de incubație este de 1 până la 14 zile, în principal de 3 până la 7 zile. Printre pacienții cu pneumonie cauzată de SARS-CoV-2, febra a fost cel mai frecvent simptom, urmat de tuse.[3] Gripa, denumită în mod obișnuit „gripă", este o boală infecțioasă cauzată de virusurile gripale.[4] Simptomele variază de la ușoare la severe și includ adesea febră, secreții nazale, dureri în gât, dureri musculare, dureri de cap, tuse și oboseală. Aceste simptome încep de obicei la 1-4 zile după expunerea la virus și durează aproximativ 2-8 zile.[5]

Principiul testului

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal) conține o bandă pe bază de membrană; membrana este pre-acoperită pe linia de test cu anticorpi imobilizați anti-SARS-CoV-2, anti-virus gripal A și anti-virus gripal B și pe linia de control cu anticorpi IgY monoclonali anti-pui de șoarece. Patru tipuri de conjugate de aur (conjugate de aur cu anticorpi monoclonali specifici SARS-CoV-2, virusului gripal A și virusului gripal B și conjugat de aur cu IgY de pui) se deplasează în sus pe membrană cromatografic și reacționează cu anticorpii anti-SARS-CoV-2, anti-virus gripal A, anti-virus gripal B și, respectiv, cu anticorpii IgY monoclonali anti-pui de șoarece pre-acoperiți. Pentru un rezultat pozitiv, fiecare agent patogen al SARS-CoV-2, virusului gripal A și virusului gripal B va forma o linie de test în fereastra de rezultate. Nici linia de test și nici linia de control nu sunt vizibile în fereastra de rezultate înainte de aplicarea probei de la pacient. Pentru a indica faptul că rezultatul testului este valid, este necesară o linie de control vizibilă.

ROMÂNĂ

Destinația de utilizare

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) este un test rapid de diagnostic *in-vitro* pentru detectarea calitativă a antigenului (Ag) SARS-CoV-2 și virusurilor gripale A&B în probe umane prelevate prin exsudat nazofaringian de la persoane care corespund criteriilor clinice și/sau epidemiologice privind infecția cu COVID -19 și/sau gripă.

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) este destinat uzului profesional și este destinat utilizării ca adjuvant în diagnosticarea infecției cu SARS-CoV-2 și gripă. Produsul poate fi utilizat în laborator și în medii care nu sunt de laborator.

Testul furnizează rezultate de test preliminare. Rezultatele negative nu exclud infecția cu SARS-CoV-2 și virusurile gripale A&B și nu pot fi utilizate ca bază unică pentru tratament sau alte decizii de abordare terapeutică. Rezultatele

negative trebuie să fie combinate cu observații clinice, cu istoricul pacientului și cu informații epidemiologice.

Materiale furnizate

- 10 dispozitive de testare cu desicant în folii protectoare individuale
- 10 eprubete cu soluție tampon de extracție în folie protectoare
- 10 capace pentru vârfuri
- 10 tampoane pentru exsudat nazofaringian sterile pentru prelevarea probelor
- 1 suport pentru eprubete
- 1 set de Instrucțiuni de utilizare cu Ghid de referință rapidă

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

- Echipament individual de protecție conform recomandărilor locale (de exemplu, costum/halat de laborator, mască de protecție, vizieră/ochelari de protecție și mănuși)
- Cronometru
- Recipient pentru materiale cu risc biologic

Substanțe active ale principalelor componente

- Dispozitiv de testare
  Conjugat de aur: aur coloidal conjugat cu anticorpi monoclonali anti-Ag SARS-CoV-2, Ag virus gripal A și Ag virus gripal B și aur coloidal conjugat cu IgY de pui, linie de test: anticorpi monoclonali de șoarece anti-SARS-CoV-2, anticorpi monoclonali de șoarece anti-virus gripal A și anticorpi monoclonali pentru fragmentul de legare a antigenului anti-virus gripal B, linie de control: anticorpi IgY monoclonali anti-pui de șoarece
- Soluție tampon: tricină, clorură de sodiu, Tween 20, Tergitol 15-S-9, azidă de sodiu (< 0,1 %)

Depozitarea și stabilitatea kitului de test

1. Kitul de test trebuie păstrat la o temperatură cuprinsă între 2 și 30 °C. Nu congelați kitul sau componentele acestuia.
2. Când sunt depozitate la frigider, toate componentele kitului trebuie aduse la temperatura camerei (15 - 30 °C) timp de minimum 30 de minute înainte de efectuarea testului. Nu deschideți folia protectoare în timp ce componentele ajung la temperatura camerei.
3. Efectuați testul imediat după scoaterea dispozitivului de testare din folia protectoare.
4. Nu utilizați kitul de test după data sa de expirare.
5. Perioada de valabilitate a kitului este indicată pe ambalajul exterior.
6. Nu utilizați kitul de test dacă folia protectoare este deteriorată sau dacă sigiliul este rupt.

7. Probele cu prelevare direct pe tampon trebuie testate imediat după prelevare. Dacă nu este posibilă testarea imediată, proba prelevată pe tampon poate fi păstrată într-o eprubetă umplută cu soluție tampon de extracție la temperatura camerei (15 - 30 °C) timp de până la 2 ore înainte de testare.

Avertismente

1. Destinat utilizării doar pentru diagnostic *in vitro*. Nu reutilizați dispozitivul de testare și componentele kitului.
2. Aceste instrucțiuni trebuie respectate cu strictețe de către personal medical specializat pentru a obține rezultate exacte. Toți utilizatorii trebuie să citească instrucțiunile înainte de a efectua un test.
3. Nu mâncați și nu fumați în timpul manipulării probelor.
4. Purtați mănuși de protecție în timp ce manipulați probele și spălați-vă bine pe mâini după aceea.
5. Evitați stropirea sau formarea de aerosoli cu proba și substanța tampon.
6. Curățați bine scurgerile folosind un dezinfectant adecvat.
7. Decontaminați și eliminați toate probele, kiturile de reactivi și materialele potențial contaminate (respectiv, tamponul, eprubeta cu soluție tampon de extracție, dispozitivul de testare) într-un recipient pentru materiale cu risc biologic ca și cum ar fi deșeuri infecțioase și eliminați în conformitate cu reglementările locale în vigoare.
8. Nu amestecați și nu schimbați diferite probe între ele.
9. Nu amestecați reactivul celor pentru alt produs.
10. Nu depozitați kitul de test în lumina directă a soarelui.
11. Pentru a evita contaminarea, nu atingeți capul tamponului furnizat atunci când deschideți folia protectoare a tamponului.
12. Tampoanele sterile trebuie utilizate numai pentru prelevarea probelor nazofaringiene.
13. Pentru a evita contaminarea încrucișată, nu refolosiți tampoanele pentru prelevarea probelor.
14. Nu diluați exsudatul prelevat cu nicio soluție, cu excepția soluției tampon furnizate.
15. Soluția tampon conține < 0,1 % azidă de sodiu drept conservant, care poate fi toxic dacă este ingerat. Când este eliminată în chiuvetă, spălați cu o cantitate mare de apă.[6]

Procedura de testare (consultați figurile)

Probe de tampon nazofaringian

Notă: personalul medical trebuie să respecte ghidurile de siguranță personală, inclusiv utilizarea echipamentului individual de protecție.

Pregătirea testării

1. Când sunt depozitate la frigider, toate componentele kitului trebuie aduse la temperatura camerei (15 - 30 °C) timp de minimum 30 de minute înainte de efectuarea testului. Nu deschideți folia protectoare în timp ce componentele ajung la temperatura camerei.
2. Scoateți dispozitivul de testare din folia protectoare. Așezați pe o suprafață plană, orizontală și curată.
3. Țineți eprubeta cu soluție tampon de extracție în poziție verticală și îndepărtați folia. Așezați eprubeta cu soluție tampon de extracție în suportul pentru eprubete.

Colectarea și extracția probelor nazofaringiene

1. Înclinați capul pacientului ușor înapoi cu aproximativ 45°-70° pentru a îndrepta pasajul din partea din față a nasului.
2. Introduceți tamponul prin nară paralel cu palatul.
   ⚠ **Atenție:** utilizați tampon nazofaringian dedicat pentru recoltarea probelor, furnizat în kit.
3. Tamponul trebuie să atingă o adâncime egală cu distanța de la nări la deschiderea exterioară a urechii.
   ⚠ **Atenție:** dacă întâmpinați rezistență în timpul introducerii tamponului, îndepărtați-l și încercați să îl introduceți în nara opusă.
4. Frecați ușor și rotiți tamponul, de 5 ori. Lăsați tamponul pe loc câteva secunde pentru a absorbi secrețiile.
5. Scoateți încet tamponul în timp ce îl rotiți și introduceți-l în eprubeta cu soluție tampon de extracție.
6. Rotiți vârful tamponului în lichidul de soluție tampon din interiorul eprubetei cu soluție tampon de extracție, împingând în peretele eprubetei cu soluție tampon de extracție de cel puțin cinci ori și apoi stoarceți tamponul strângând cu degetele eprubeta cu soluție tampon de extracție.
7. Eliminați tamponul folosit în conformitate cu reglementările locale și cu protocolul de eliminare a deșeurilor cu risc biologic.
8. Apăsați strâns capacul pentru vârfuri pe eprubeta cu soluție tampon de extracție.

Reacția cu dispozitivul de testare

1. Distribuiți vertical 4 picături de probă prelevată în godeul pentru probă de pe dispozitiv.
   ⚠ **Atenție:** nu manipulați și nu mutați dispozitivul de testare până când testul nu este finalizat și gata de interpretare.
2. Porniți cronometrul. Citiți rezultatul după 15 minute. Nu citiți rezultatul înainte de 15 minute sau după 20 de minute.
3. Închideți vârful folosind capacul și eliminați eprubeta cu soluție tampon de extracție în conformitate cu reglementările locale și cu protocolul de eliminare a deșeurilor cu risc biologic.

4. Eliminați dispozitivul folosit în conformitate cu reglementările locale și cu protocolul de eliminare a deșeurilor cu risc biologic.

Limitări ale testului

1. Conținutul acestui kit urmează să fie utilizat pentru detectarea calitativă și profesională a antigenilor SARS-CoV-2 și a virusurilor gripale A&B din tampon nazofaringian. Alte tipuri de probe pot duce la rezultate incorecte și nu trebuie utilizate.
2. Nerespectarea instrucțiunilor pentru procedura de testare și pentru interpretarea rezultatelor testului poate afecta negativ performanța testului și/sau poate produce rezultate nevalide.
3. Un rezultat negativ al testului poate apărea dacă proba a fost colectată, extrasă sau transportată necorespunzător. Un rezultat negativ al testului nu elimină posibilitatea infecției cu SARS-CoV-2 și gripa A&B și ar trebui confirmat prin cultură virală sau printr-un test molecular.
4. Rezultatele pozitive ale testelor nu exclud co-infecțiile cu alți agenți patogeni.
5. Rezultatele testelor trebuie evaluate împreună cu alte date clinice disponibile medicului.
6. Citirea rezultatelor testului mai devreme de 15 minute sau mai târziu de 20 de minute poate da rezultate incorecte.
7. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) nu este destinat să detecteze din virusul defectuos (neinfecțios) în etapele ulterioare ale excreției virale care ar putea fi detectate prin teste moleculare PCR.[7]
8. Rezultate pozitive pot apărea în cazurile de infecție cu SARS-CoV sau albumină.
9. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) nu a fost evaluat pentru următoarele tulpini de gripă, așa cum se face referire în ghidul OMS: A/Darwin/9/2021 (H3N2), B/Austria/1359417/2021.
10. Așteptați 4 ore înainte de a repeta testul după un rezultat invalid.
11. Performanța clinică a fost evaluată cu probe congelate, iar performanța testului poate fi diferită cu probele proaspete.

Controlul calității

Controale procedurale

Dispozitivul de testare dispune pe suprafața sa de o linie de control („C”) și de linii de test („FLU B”, „FLU A”, „COV 19”). Nici linia de test și nici linia de control nu sunt vizibile în fereastra de rezultate înainte de aplicarea unei probe. Linia de control este utilizată pentru controlul procedural și trebuie să apară întotdeauna dacă procedura de testare este efectuată corect, iar reactivii de test ai liniei de control funcționează.

Controale externe
O bună practică de laborator recomandă utilizarea materialelor de control extern. Utilizatorii trebuie să respecte ghidurile federale, statale și locale referitoare la frecvența testării controalelor externe. Controale pozitive specifice pot fi comandate folosind următorul număr de catalog: 62FK11C.

Caracterisitici de performanță

1. Performanța clinică cu proba NP a Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) este conceput pentru colectarea de probe nazofaringiene dintr-o singură nară. Performanța Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) a fost stabilită cu tampoane nazofaringiene testate în Coreea în septembrie 2021 cu 100 de teste pozitive COVID-19, 50 de teste pozitive pentru gripa A, 50 de teste pozitive pentru gripa B și 200 de probe negative pentru antigenul COVID-19 și gripa A&B.

Au fost colectate probe de la subiecți care au prezentat simptome de gripă A&B și/sau COVID-19. Un specimen a fost colectat pentru testarea Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) și un altul pentru PCR. Tampoanele au fost colectate și extrase în medii de transport virale. Probele au fost congelate după colectare și dezghețate înainte de testare. Performanța Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) a fost evaluată prin comparație cu o metodă RT-PCR marcată CE.

Studiul a arătat o sensibilitate de 88,0 % (IÎ 95 %: 80,0-93,6 %) și specificitate de 100,0 % (IÎ 95 %: 98,2-100,0 %) pentru SARS-CoV-2, o sensibilitate de 92,0 % (IÎ 95 %: 80,8-97,8 %) și specificitate de 100,0 % (IÎ 95 %: 98,2-100,0 %) pentru gripa A și o sensibilitate de 100,0 % (IÎ 95 %: 92,9-100,0 %) și specificitate de 100,0 % (IÎ 95 %: 98,2-100,0 %) pentru gripa B.

Rezultate Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) pentru NP COVID-19

SARS-CoV-2		RT-PCR			Sensibilitate generală (IÎ 95 %)	Specificitate generală (IÎ 95 %)
		Pozitiv	Negativ	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitiv	88	0	88	88,0 % (80,0-93,6 %)	100,0 % (98,2-100,0 %)
	Negativ	12	200	212		
	Total	100	200	300		

- Acordul pozitiv al Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) este mai mare în cazul specimenelor cu valori Ct ≤ 30 cu o sensibilitate de

94,4 % (IÎ 95 %:87,5-98,3 %) și mai mic în cazul specimenelor cu valori Ct > 30 cu o sensibilitate de 30,0 % (IÎ 95 %:6,7-65,3 %) pentru SARS-CoV-2. După cum se sugerează în referințele 7-9, pacienții cu valori Ct > 30 nu mai sunt contagioși.[7, 8, 9]

Rezultatele Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) pentru NP Gripa A

Gripa A		RT-PCR			Sensibilitate generală (IÎ 95 %)	Specificitate generală (IÎ 95 %)
		Pozitiv	Negativ	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitiv	46	0	46	92,0 % (80,8-97,8 %)	100,0 % (98,2-100,0 %)
	Negativ	4	200	204		
	Total	50	200	250		

Rezultatele Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) pentru NP Gripa B

Gripa B		RT-PCR			Sensibilitate generală (IÎ 95 %)	Specificitate generală (IÎ 95 %)
		Pozitiv	Negativ	Total		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitiv	50	0	50	100,0 % (92,9-100,0 %)	100,0 % (98,2-100,0 %)
	Negativ	0	200	200		
	Total	50	200	250		

2. Limita de detecție

Limita de detecție a Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) a fost determinată pe următoarele tulpini de virus:

- 1,54 X 10^2 $TCID_{50}$/ml de SARSCoV-2 care a fost izolată de la un pacient confirmat cu COVID-19 din Coreea.
- 4,07 X 10^2 $TCID_{50}$/ml de tulpină de gripă A H1N1/California/07/09.
- 1,14 X 10^2 $TCID_{50}$/ml de gripă A H3N2/Perth/16/09.
- 2,46 X 10^4 UI/ml de gripă B/Wisconsin/1/2010.

Aceste tulpini virale gripale A au fost obținute de la ZeptoMetrix cu informații despre titru. Caracteristicile de performanță pentru virusul gripal A pot varia în funcție de subtipuri, regiune și anul de apariție, deoarece virusurile gripale A au suferit modificări minore de aminoacizi în regiunea epitopului țintă.

3. Efect „Hook"

Nu există efect „Hook" la:

- 1,0 X $10^{5,8}$ $TCID_{50}$/ml cu lichid de cultură SARS-CoV-2, care a fost izolat de la un pacient confirmat cu COVID-19 în Coreea.
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml cu gripă A H1N1/California/07/09.

- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml cu gripă A H3N2/Perth/16/09.
- 1,40 X 10^7 UI/ml cu gripă B/Wisconsin/1/2010.
- 5,0 X $10^{7,25}$ $TCID_{50}$/ml cu gripă A H1N1/New Jersey/8/76.
- 3,40 X 10^9 $TCID_{50}$/ml cu gripă A/Denver/1/57.
- 5,0 X $10^{6,5}$ $TCID_{50}$/ml cu gripă A/Hongkong/8/68.

4. Reactivitate încrucișată

Reactivitatea încrucișată a Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) a fost evaluată prin testarea a 76 de virusuri și a altor 37 de microorganisme (5 replici din fiecare). După cum era de așteptat, tulpinile umane de gripă A au reacționat cu linia de testare a gripei A și nu au avut reacții încrucișate cu liniile de testare a gripei B sau COVID-19. După cum era de așteptat, tulpinile umane de gripă B au reacționat cu linia de testare a gripei B și nu au avut reacții încrucișate cu liniile de testare a gripei A sau COVID-19. Tulpinile de gripă non-umană nu au reacționat cu liniile de testare pentru gripă A, B sau COVID-19. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) are reactivitate încrucișată cu nucleoproteina umană-SARS-coronavirus la o concentrație de ≥ 200 pg/ml datorită SARS-CoV care are o omologie ridicată cu SARS-CoV-2 (79,6 %).

Virusuri testate		
Nucleoproteina SARS-CoV	Gripa A H1N1 (California/07/09)	Gripa A H1N1 (A/Beijing/262/1995)
Gripa A H1N1 (A/New Jersey/8/76)	Gripa A H1N1 (A/Denver/1/57)	Gripa H1N1 (A/Puerto Rico/8/34)
Gripa A H1N1 (A/ FM/1/47)	Gripa H3N2 (A/Hongkong/8/68)	Gripa A H3N2 (A/Victoria/3/75)
Gripa A H3N2 (A/Port Chalmers/1/73)	Gripa A H3N2 (Perth/16/09)	Gripa A H3N2 (Wisconsin/67/05)
Gripa A H5N1 (A/ China/2006)	Gripa A H5N2 (A/pui/ Iowa/04-20/2015)*	Gripa A H7N1 (A/turkey/ Italy/4602/99)*
Gripa A H7N2 (A/ ruddy turnstone/ New Jersey/563/2006)*	Gripa A H7N7 (A/chicken/ Netherlands/1/03)*	Gripa B (B/Florida/ 78/2015, Victoria Lineage)

Virusuri testate		
Gripa B (B/ Florida/4/2006, Yamagata Lineage)	Gripa B (B/Maryland/1/59, descendența Victoria)	Gripa B (B/GL/1739/54)
Gripa B (B /Taiwan/2/62)	Influenza B (B/Malaezia/2506/04, descendența Victoria)	Gripa B (B/Wisconsin/1/2010, descendența Yamagata)
Gripa A H1N1 (A/ Wisconsin/588/2019)/ (A/Victoria/2570/2019)	Gripa A H3N2 (A/Cambodia/ e0826360/2020)	Gripa B (B/Phuket/3073/2013, descendența Yamagata)
Gripa B (B/Washington/02/2019, descendența Victoria)		

* tulpină de gripă non-umană

Nu a existat nicio reacție încrucișată cu virusurile și microorganismele enumerate mai jos.

Virusuri testate		
HCoV-HKU1	HCoV-NL63	HCoV-OC43
MERS-CoV	HCoV-229E	Adenovirus uman 1
Adenovirus uman 2	Adenovirus uman 3	Adenovirus uman 4
Adenovirus uman 5	Adenovirus 6	Adenovirus 7
Adenovirus 10	Adenovirus uman 18	Adenovirus 21
Norovirus	Virusul Epstein Barr	Herpesvirus uman (HSV) 1
Herpesvirus uman (HSV) 2	Citomegalovirus uman	Virusul oreionului
Virusul parainfluenza tip 4A	Virusul parainfluenza tip 4B	Parainfluenza tip 1
Parainfluenza tip 2	Parainfluenza tip 3	Virusul sincițial respirator uman A
Virusul sincițial respirator uman B	Virus rujeolic	hMPV 16 tip A1
Rinovirus uman tip 1B	Rinovirus tip A2	Rinovirus uman 14
Rinovirus A16	Rotavirus A	Virusul Sendai
Virusul rubeolei	Coxsackievirus A9	Coxsackievirus B4
Coxsackievirus B5	Ecovirus uman 2	Ecovirus uman 6
Ecovirus 7	Ecovirus 11	Enterovirus uman 71
Poliovirus 1	Enterovirus D68	

Microorganisme testate		
Bordetella pertussis	*Mycobacterium avium*	*Staphylococcus epidermidis*
Candida albicans	*Mycobacterium tuberculosis*	*Staphylococcus haemolyticus*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus faecalis	*Neisseria lactamica*	*Streptococcus pneumoniae*
Escherichia coli	*Neisseria gonorrhoeae*	*Streptococcus pyogenes*
Fusobacterium necrophorum	*Neisseria meningitidis*	*Streptococcus salivarius*
Haemophilus influenzae	*Neisseria sp. (Neisseria lactamica)*	*Streptococcus anginosus*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus vulgaris*	*Pneumocytis jirovecci (PJP)*
Legionella pneumophila	*Pseudomonas aeruginosa*	*Spălare nazală umană combinată*
Moraxella catarrhalis	*Corynebacterium diphtheriae*	*Enterococcus faecium*
Lactobacillus plantarum	*Neisseria sicca*	*Streptococcus agalactiae*
Streptococcus bovis	*Streptococcus oralis*	*Arcanobacterium haemolyticum*
Staphylococcus aureus		

5. Substanțe interferente

Următoarele 53 de substanțe cu potențial de interferență (5 replici din fiecare) nu au niciun impact asupra Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP), cu excepția albuminei la concentrații > 55 g/L.

Tip	Substanțe testate			
Endogen	Mucină	Sânge uman	Bilirubină	Anticorp antinuclear (ANA)
	Lipide din sânge	Hemoglobină	Factor reumatoid	Anticorp uman anti-șoarece
	Albumină	Mometazonă	Lopinavir	Acid acetilsalicilic
Exogen	Fenilefrină	Fluticazonă	Ritonavir	Ibuprofen
	Oximetazolină	Clorfeniramină	Arbidol	Sulf (Sulfur)
	Clorură de sodiu	Difenhidramină	Levofloxacină	Luffa opperculata
	Spray nazal (NasalCrom)	Diclorhidrat de histamină	Azitromicină	Benzocaină
	Spray nazal (Equate)	Histamină	Meropenem	Mentol
	Beclometazonă	Galphimia glauca	Tobramicină	Acetaminofen
	Dexametazonă	Histaminum hydrochloricum	Mupirocină	Apă de gură (Crest)
	Flunisolid	Zanamivir	Albuterol	Apă de gură (Listerine)
	Triamcinolon acetonid	Ribavirină (Rebetol)	Efedrină	Apă de gură (Therabreath)
	Budesonidă	Tamiflu (Oseltamivir)	Guaiacol-gliceril-eter	Heparină
	Fenilpropanolamină			

6. Repetabilitate și reproductibilitate

Repetabilitatea și reproductibilitatea Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) a fost stabilită folosind 3 probe pozitive (concentrație moderată, slabă, de proximitate LoD) pentru fiecare tulpină (SARS-CoV-2, Gripa A H1N1, Gripa A H3N2 și Gripa B) și probă negativă. Nu au fost observate diferențe în cadrul rulării, între rulări, între loturi, între locații și între zile.

PREGĂTIRE

1 Când sunt depozitate la frigider, toate componentele kitului trebuie aduse la temperatura camerei (15 - 30 °C) timp de minimum 30 de minute înainte de efectuarea testului. Nu deschideți folia protectoare în timp ce componentele ajung la temperatura camerei.

Notă: personalul medical trebuie să respecte ghidurile de siguranță personală, inclusiv utilizarea echipamentului individual de protecție.

---

2 **Deschideți pachetul și căutați următoarele:**

1. Dispozitiv de testare cu desicant în folie protectoare individuală
2. Eprubetă cu soluție tampon de extracție în folie protectoare
3. Capac pentru vârfuri
4. Tampon pentru exsudat nazofaringian steril pentru prelevarea probelor
5. Suport pentru eprubete
6. Instrucțiuni de utilizare cu Ghid de referință rapidă

---

3 Citiți cu atenție aceste instrucțiuni înainte de a utiliza Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP).

---

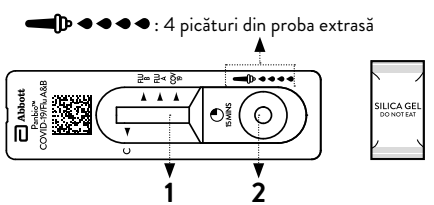
4 Verificați data de expirare a cutiei kitului. Dacă data de expirare a fost depășită, alegeți un alt kit pentru utilizare.

---

5 **Deschideți folia protectoare a dispozitivului de testare și căutați următoarele:**

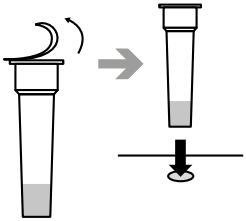
1. Fereastră de rezultate
2. Godeu pentru probă

Apoi, etichetați dispozitivul cu identificatorul pacientului.

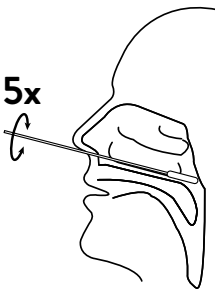


PROCEDURA DE TESTARE

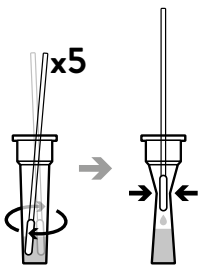
1 Țineți eprubeta cu soluție tampon de extracție în poziție verticală și îndepărtați folia. Așezați eprubeta cu soluție tampon de extracție în suportul pentru eprubete.



2 Înclinați capul pacientului înapoi (aproximativ 45°-70°). Introduceți tamponul prin nară. Frecați ușor și rotiți tamponul, de 5 ori. Lăsați tamponul pe loc câteva secunde. Scoateți încet tamponul.



3 Introduceți proba prelevată pe tampon în eprubeta cu soluție tampon de extracție. Rotiți vârful tamponului în lichidul de soluție tampon din interiorul eprubetei cu soluție tampon de extracție, împingând în peretele eprubetei cu soluție tampon de extracție de cel puțin cinci ori și apoi stoarceți tamponul strângând cu degetele eprubeta cu soluție tampon de extracție.



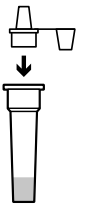
4 Eliminați tamponul folosit în conformitate cu reglementările locale și cu protocolul de eliminare a deșeurilor cu risc biologic.



ROMÂNĂ

PROCEDURA DE TESTARE

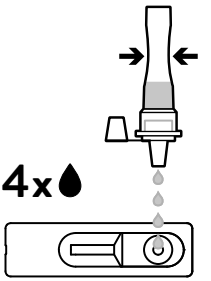
5 Apăsați strâns capacul pentru vârfuri pe eprubeta cu soluție tampon de extracție.



---

6 Distribuiți vertical 4 picături de probă prelevată în godeul pentru probă de pe dispozitiv.

⚠ **Atenție:** nu manipulați și nu mutați dispozitivul de testare până când testul nu este finalizat și gata de interpretare.



---

7 Porniți cronometrul. Citiți rezultatul după 15 minute.

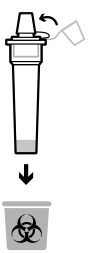
Nu citiți rezultatul după 20 de minute.

Notă: în fereastra de rezultate poate apărea o linie de control („C") după câteva minute, însă apariția unei linii de test („FLU B", „FLU A", „COV 19") poate dura până la 15 minute.



---

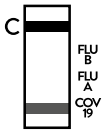
8 Închideți vârful folosind capacul și eliminați eprubeta cu soluție tampon de extracție în conformitate cu reglementările locale și cu protocolul de eliminare a deșeurilor cu risc biologic.



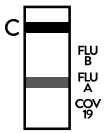
INTERPRETAREA TESTULUI

POZITIV

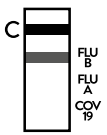
- **Pozitiv pentru COVID-19:** prezența a două linii colorate (linia de test „COV 19” și linia de control „C”) în fereastra de rezultate.



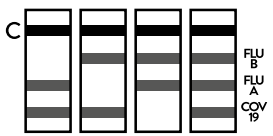
- **Pozitiv pentru virusul gripal A:** prezența a două linii colorate (linia de test „FLU A” și linia de control „C”) în fereastra de rezultate.



- **Pozitiv pentru virusul gripal B:** prezența a două linii colorate (linia de test „FLU B” și linia de control „C”) în fereastra de rezultate.



- **Multiple rezultate pozitive:** prezența a trei sau patru linii colorate (linia de test „FLU B”, „FLU A”, „COV 19” și linia de control „C”) în fereastra de rezultate.



ROMÂNĂ

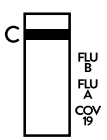
⚠ **Atenție:** prezența oricărei linii de test („FLU B”, „FLU A”, „COV 19”), indiferent cât de slab colorată, indică un rezultat pozitiv.

Notă: în cazul mai multor rezultate pozitive, utilizatorul trebuie să fie conștient de această situație unică, deoarece ambele infecții pot prezenta simptome similare, dar tratamentul poate fi diferit.

Rețineți că testul furnizează rezultate de test preliminare.

NEGATIV

Prezența doar a liniei de control („C”) și a niciunei linii de test („FLU B”, „FLU A”, „COV 19”) în fereastra de rezultate indică un rezultat negativ.

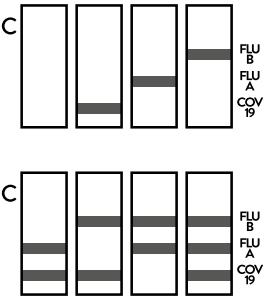


INTERPRETAREA TESTULUI

INVALID

Dacă linia de control („C”) nu este vizibilă în fereastra de rezultate după efectuarea testului, rezultatul este considerat invalid (chiar dacă linia de test poate fi vizibilă).

Este posibil ca instrucțiunile să nu fi fost respectate în mod corect. Se recomandă să așteptați 4 ore, să citiți din nou instrucțiunile de utilizare și să colectați o nouă probă și să testați din nou folosind un nou dispozitiv de testare.



9 Eliminați dispozitivul folosit în conformitate cu reglementările locale și cu protocolul de eliminare a deșeurilor cu risc biologic.



ROMÂNĂ

O testu

SR

Uvod

Bolest koronavirusa (COVID-19) je zarazna bolest izazvana novootkrivenim korona virusom, koronavirusom 2 koji izaziva teški akutni respiratorni sindrom (SARS-CoV-2).[1] SARS-CoV-2 je β-korona virus, koji je obavijeni nesegmentirani RNK virus pozitivnog „oseta".[2] Širi se prenošenjem sa čoveka na čoveka kapljicama ili direktnim kontaktom. Na osnovu aktuelnih epidemioloških istraživanja, period inkubacije iznosi 1 do 14 dana, a uglavnom 3 do 7 dana. Među pacijentima sa upalom pluća izazvanom virusom SARS-CoV-2, groznica je bila najčešći simptom, praćen kašljem.[3] Influenca, koja se obično naziva „grip", jeste zarazna bolest uzrokovana virusima influence.[4] Simptomi se kreću od blagih do teških i često uključuju groznicu, curenje iz nosa, bol u grlu, bol u mišićima, glavobolju, kašalj i umor. Ti simptomi obično počinju 1–4 dana nakon izlaganja virusu i traju oko 2–8 dana.[5]

Princip testiranja

Brzi test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal) sadrži membransku traku, koja je premazana imobilizovanim anti-SARS-CoV-2, anti-influenca-A i anti-influenca B antitelima na testnoj liniji i mišjim monoklonskim antikokošijim IgY na kontrolnoj liniji. Četiri vrste zlatnih konjugata (zlatni konjugati monoklonskih antitela specifičnih za SARS-CoV-2, influencu A i influencu B i zlatni konjugat kokošijeg IgY) kreću se nagore na membrani hromatografski i reaguju sa anti-SARS-CoV-2, anti-influenca A, anti-influenca B antitelima i prethodno premazanim mišjim monoklonskim antikokošijim IgY antitelima. Za pozitivan rezultat, svaki patogen SARS-CoV-2, influence A i influence B formiraće testnu liniju u prozoru za rezultat. Ni testna linija ni kontrolna linija nisu vidljive u prozoru za rezultat pre nanošenja uzorka pacijenta. Potrebna je vidljiva kontrolna linija da pokaže da je rezultat testa validan.

SRPSKI

Namena

Brzi test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) predstavlja *in vitro* dijagnostički brzi test za kvalitativno otkrivanje antigena (Ag) SARS-CoV-2 i influence A i B u humanim uzorcima nazofaringealnog brisa uzetih od osoba koje ispunjavaju kliničke i/ili epidemiološke kriterijume za COVID-19 i/ili grip.

Brzi test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) namenjen je za profesionalnu upotrebu i predviđeno je da se koristi kao pomoć u dijagnostikovanju infekcije virusima SARS-CoV-2 i influence. Proizvod se može koristiti u laboratorijskom i nelaboratorijskom okruženju.

Test pruža preliminarne rezultate testa. Negativni rezultati ne isključuju infekciju virusom SARS-CoV-2 i influence A i B i ne mogu se koristiti kao isključiva osnova za terapiju ili druge odluke u lečenju pacijenta. Negativne rezultate treba kombinovati sa kliničkim zapažanjima, anamnezom pacijenta i epidemiološkim podacima.

Materijali koji se isporučuju uz proizvod

- 10 uređaja za testiranje sa sredstvom za sušenje u pojedinačnim kesicama od folije
- 10 epruveta sa puferom za ekstrakciju u kesici od folije
- 10 kapica mlaznica
- 10 sterilizovanih nazofaringealnih štapića za uzimanje uzorka
- 1 stalak za epruvete
- 1 Uputstvo za upotrebu sa Brzim referentnim vodičem

Potreban materijal koji nije isporučen

- Lična zaštitna oprema u skladu sa lokalnim preporukama (npr. mantil/ laboratorijski mantil, maska za lice, štitnik za lice / naočare i rukavice)
- Tajmer
- Posuda za biološki opasni materijal

Aktivni sastojci glavnih komponenti

- Uređaj za testiranje
  Zlatni konjugat: monoklonska antitela na SARS-CoV-2 Ag, anti-influenca A Ag, i B Ag – zlatni koloid i kokošiji IgY – zlatni koloid, testna linija: mišji monoklonski anti-SARS-CoV-2, mišja monoklonska anti-influenca A i anti-influenca B sa fragmentom koji se vezuje za antigen, kontrolna linija: mišji monoklonski antkokošiji IgY
- Pufer: Tricin, natrijum-hlorid, Tween 20, Tergitol 15-S-9, natrijum-azid (<0,1%)

Skladištenje i stabilnost kompleta za testiranje

1. Komplet za testiranje treba čuvati na temperaturi između 2 °C i 30 °C. Nemojte zamrzavati komplet ili njegove komponente.
2. Kada se čuvaju u frižideru, sve komponente kompleta moraju se dovesti na sobnu temperaturu (15 °C – 30 °C) najmanje 30 minuta pre izvođenja testa. Ne otvarajte kesicu dok komponente ne dostignu sobnu temperaturu.
3. Obavite test čim izvadite uređaj za testiranje iz kesice sa folijom.
4. Nemojte koristiti komplet za testiranje nakon isteka roka trajanja.
5. Rok trajanja kompleta je naveden na spoljnom pakovanju.
6. Nemojte koristiti komplet za testiranje ako je kesica oštećena ili ako je zaptivka slomljena.
7. Direktne uzorke brisa treba testirati odmah nakon uzimanja. Ako trenutno testiranje nije moguće, uzorak brisa se može držati u epruveti sa puferom za ekstrakciju na sobnoj temperaturi (15 °C – 30°C) do 2 sata pre testiranja.

Upozorenja

1. Samo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu. Nemojte ponovo koristiti uređaj za testiranje i komponente kompleta.

2. Da bi dobio tačne rezultate, obučeni zdravstveni radnik mora strogo da se pridržava ovog uputstva. Svi korisnici moraju da pročitaju uputstvo pre obavljanja testa.
3. Nemojte da jedete ili pušite dok rukujete uzorcima.
4. Nosite zaštitne rukavice dok rukujete uzorcima, a nakon toga temeljno operite ruke.
5. Izbegavajte prskanje ili stvaranje aerosola uzorka i pufera.
6. Temeljno očistite proliven materijal odgovarajućim sredstvom za dezinfekciju.
7. Dekontaminirajte i odložite u otpad sve uzorke, reakcione komplete i potencijalno kontaminirani materijal (tj. bris, epruvetu sa puferom za ekstrakciju, uređaj za testiranje) u posudu za biološki opasni materijal kao da su infektivni otpad i bacite ih u skladu sa važećim lokalnim propisima.
8. Nemojte mešati ili razmenjivati različite uzorke.
9. Nemojte mešati reagens sa reagensima za druge proizvode.
10. Nemojte čuvati komplet za testiranje na direktnoj sunčevoj svetlosti.
11. Da biste izbegli kontaminaciju, ne dodirujte glavu priloženog štapića za bris kada otvarate kesicu sa štapićem.
12. Sterilisani štapići za bris treba da se koriste samo za uzimanje nazofaringealnih uzoraka.
13. Da biste izbegli unakrsnu kontaminaciju, nemojte ponovo koristiti štapiće za uzimanje uzoraka.
14. Nemojte razblaživati uzeti bris nijednim rastvorom osim priloženim puferom.
15. Pufer sadrži <0,1% natrijum-azida kao konzervansa, koji može biti toksičan ako se proguta. Kada se odlaže kroz sudoperu, isperite velikom količinom vode.[6]

Postupak testiranja (pogledajte slike)

Uzorci nazofaringealnog brisa

Napomena: Zdravstveni radnici treba da se pridržavaju smernica za ličnu bezbednost, uključujući upotrebu lične zaštitne opreme.

Priprema testa

1. Kada se čuvaju u frižideru, sve komponente kompleta moraju se dovesti na sobnu temperaturu (15 °C – 30 °C) najmanje 30 minuta pre obavljanja testa. Ne otvarajte kesicu dok komponente ne dostignu sobnu temperaturu.
2. Izvadite uređaj za testiranje iz kesice od folije. Postavite na ravnu, horizontalnu i čistu površinu.
3. Držite epruvetu sa puferom za ekstrakciju uspravno i uklonite foliju. Postavite epruvetu sa puferom za ekstrakciju u stalak za epruvete.

Uzimanje i ekstrakcija nazofaringealnog uzorka

1. Nagnite glavu pacijenta lagano unazad oko 45°–70° da biste ispravili prolaz od prednje strane nosa.
2. Umetnite štapić kroz nozdrvu paralelno sa nepcem.
   ⚠ **Oprez:** Koristite poseban štapić za nazofaringealni bris isporučen u kompletu.

3. Štapić treba da dostigne dubinu jednaku udaljenosti od nozdrva do spoljašnjeg otvora uva.
   ⚠ **Oprez:** Ako naiđete na otpor prilikom umetanja štapića, izvadite ga i pokušajte da ga umetnete u suprotnu nosnicu.
4. Blago protrljajte i rotirajte štapić 5 puta. Ostavite štapić na mestu nekoliko sekundi da upije sekret.
5. Polako izvlačite štapić dok ga okrećete i stavite ga u epruvetu sa puferom za ekstrakciju.
6. Zavrtite vrh štapića u puferskoj tečnosti u epruveti sa puferom za ekstrakciju, pritiskajući ga uza zid epruvete sa puferom za ekstrakciju najmanje pet puta, a zatim iscedite štapić tako što ćete prstima pritisnuti epruvetu sa puferom za ekstrakciju.
7. Odložite u otpad iskorišćeni štapić u skladu sa lokalnim propisima i protokolom za odlaganje biološkog opasnog otpada.
8. Čvrsto pritisnite kapicu mlaznice na epruvetu sa puferom za ekstrakciju.

Reakcija sa uređajem za testiranje

1. Sipajte 4 kapi ekstrahovanog uzorka vertikalno u bunarčić za uzorak na uređaju.
   ⚠ **Oprez:** Ne dirajte i ne pomerajte jedinicu za testiranje dok se test ne završi i ne bude spreman za očitavanje.
2. Pokrenite tajmer. Očitajte rezultat nakon 15 minuta. Ne očitavajte rezultat pre nego što prođe 15 minuta ili ako prođe više od 20 minuta.
3. Zatvorite mlaznicu kapicom i odložite u otpad epruvetu sa puferom za ekstrakciju u skladu sa lokalnim propisima i protokolom za odlaganje biološkog opasnog otpada.
4. Odložite u otpad iskorišćeni uređaj u skladu sa lokalnim propisima i protokolom za odlaganje biološkog opasnog otpada.

Ograničenja testa

1. Predviđeno je da se ovaj komplet koristi za stručnu i kvalitativnu detekciju antigena SARS-CoV-2 i influence A i B iz nazofaringealnog brisa. Drugi tipovi uzoraka mogu dovesti do netačnih rezultata i ne smeju se koristiti.
2. Nepridržavanje uputstava za postupak testiranja i tumačenje rezultata testa može negativno uticati na performanse testa i/ili dati nevažeće rezultate.
3. Negativan rezultat testa može se pojaviti ako je uzorak nepravilno uzet, ekstrahovan ili transportovan. Negativan rezultat testa ne otklanja mogućnost infekcije SARS-CoV-2 i influencom A i B i trebalo bi ga potvrditi testom virusne kulture ili molekularnim testom.
4. Pozitivni rezultati testova ne isključuju koinfekciju drugim patogenima.
5. Rezultati testova se moraju procenjivati zajedno sa drugim kliničkim podacima dostupnim lekaru.
6. Očitavanje rezultata testa pre nego što protekne 15 minuta ili nakon više od 20 minuta može dati netačne rezultate.

7. Brzi test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) nije namenjen za otkrivanje „defektnog“ (neinfektivnog) virusa u kasnijim fazama izlučivanja virusa, koji se može otkriti PCR molekularnim testovima.[7]
8. Pozitivni rezultati se mogu javiti u slučajevima infekcije virusom SARS-CoV ili biti izazvani albuminom.
9. Brzi test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) nije procenjen za sledeće sojeve gripa navedene u smernicama SZO: A/Darwin/9/2021 (H3N2), B/Austria/1359417/2021.
10. Sačekajte 4 sata pre nego što ponovite test nakon nevažećeg rezultata.
11. Kliničke performanse su procenjene sa zamrznutim uzorcima, a performanse testa mogu da se razlikuju ako su uzorci sveži.

Kontrola kvaliteta

Kontrole postupka

Uređaj za testiranje ima kontrolnu liniju („C“) i testne linije („FLU B“, „FLU A“, „COV 19“) na površini uređaja za testiranje. Ni testna linija ni kontrolna linija nisu vidljive u prozoru za rezultat pre nanošenja uzorka. Kontrolna linija se koristi za kontrolu postupka i uvek treba da se pojavi ako se postupak testiranja pravilno izvede i testni reagensi kontrolne linije deluju.

Spoljne kontrole

Dobra laboratorijska praksa preporučuje upotrebu materijala za spoljnu kontrolu. Korisnici treba da se pridržavaju saveznih, državnih i lokalnih smernica koje se odnose na učestalost spoljnjeg kontrolnog testiranja. Specifične pozitivne kontrole mogu se naručiti pod sledećim kataloškim brojem: 62FK11C.

Karakteristike performansi

1. Kliničke performanse sa NP uzorkom Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)

Brzi test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) napravljen je za uzimanje nazofaringealnog brisa iz jedne nozdrve. Performanse brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) utvrđene su na nazofaringelanim brisevima testiranim u Koreji u septembru 2021. godine sa 100 pozitivnih uzoraka na COVID-19, 50 pozitivnih uzoraka na influencu A, 50 pozitivnih uzoraka na influencu B i 200 negativnih uzoraka za antigen COVID-19 i A i B influencu.

Uzorci su prikupljeni od ispitanika koji su imali simptome influence A i B i/ili COVID-19. Jedan uzorak je prikupljen za testiranje brzim testom Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) i jedan za PCR. Brisevi su prikupljani i ekstrahovani u virusne transportne medije. Uzorci su zamrznuti nakon prikupljanja i odmrznuti pre testiranja. Performanse brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) procenjene su poređenjem sa metodom RT-PCR sa CE oznakom.

Studija je pokazala osetljivost od 88,0% (95% CI: 80,0%–93,6%) i

specifičnost od 100,0% (95% CI: 98,2%–100,0%) za SARS-CoV-2, osetljivost od 92,0% (95% CI: 80,8%–97,8%) i specifičnost od 100,0% (95% CI: 98,2%–100,0%) za influencu A i osetljivost od 100,0% (95% CI: 92,9%–100,0%) i specifičnost od 100,0% (95% CI: 98,2%–100,0%) za influencu B.

Rezultati brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) za NP COVID-19

SARS-CoV-2		RT-PCR			Ukupna osetljivost (95% CI)	Ukupna specifičnost (95% CI)
		Pozitivno	Negativno	Ukupno		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitivno	88	0	88	88,0% (80,0%–93,6%)	100,0% (98,2%–100,0%)
	Negativno	12	200	212		
	Ukupno	100	200	300		

- Pozitivno podudaranje brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) je veće kod uzoraka vrednosti Ct ≤30 sa osetljivošću od 94,4% (95%CI: 87,5%–98,3%) i manje kod uzoraka vrednosti Ct >30 sa osetljivošću od 30,0% (95%CI: 6,7%–65,3%) za SARS-CoV-2. Kao što je navedeno u referencama 7–9, pacijenti sa vrednostima Ct >30 više nisu zarazni. [7,8,9]

Rezultati brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) za NP influencu A

Influenca A		RT-PCR			Ukupna osetljivost (95% CI)	Ukupna specifičnost (95% CI)
		Pozitivno	Negativno	Ukupno		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitivno	46	0	46	92,0% (80,8%–97,8%)	100,0% (98,2%–100,0%)
	Negativno	4	200	204		
	Ukupno	50	200	250		

Rezultati brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) za NP influencu B

Influenca B		RT-PCR			Ukupna osetljivost (95% CI)	Ukupna specifičnost (95% CI)
		Pozitivno	Negativno	Ukupno		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitivno	50	0	50	100,0% (92,9%–100,0%)	100,0% (98,2%–100,0%)
	Negativno	0	200	200		
	Ukupno	50	200	250		

2. Ograničenje otkrivanja

Ograničenje otkrivanja brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) utvrđeno je na sledećim sojevima virusa:

- 1,54 X 10^2 $TCID_{50}$/ml SARS-CoV-2 koji je izolovan iz pacijenta sa potvrđenom bolešću COVID-19 u Koreji.
- 4,07 X 10^2 $TCID_{50}$/ml soja influence A H1N1/Kalifornija/07/09.
- 1,14 X 10^2 $TCID_{50}$/ml influence A H3N2/Pert/16/09.
- 2,46 X 10^4 IU/ml influence B/Viskonsin/1/2010.

Ti sojevi virusa influence A dobijeni su od kompanije ZeptoMetrix sa informacijama o titru. Karakteristike performansi virusa influence A mogu varirati u zavisnosti od podtipova, regiona i godine pojave pošto su virusi influence A pretrpeli manje promene u aminokiselinskoj sekvenci u ciljnom epitopnom području.

3. Efekat kuke

Nema efekta kuke pri:

- 1,0 X $10^{5,8}$ $TCID_{50}$/ml kod tečnosti kulture virusa SARS-CoV-2 izolovane kod pacijenta iz Koreje sa potvrđenim COVID-19.
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml kod influence A H1N1/Kalifornija/07/09.
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml kod influence A H3N2/Pert/16/09.
- 1,40 X 10^7 IU/ml kod influence B/Viskonsin/1/2010.
- 5,0 X $10^{7,25}$ $TCID_{50}$/ml kod influence A H1N1/ Nju Džerzi/8/76.
- 3,40 X 10^9 $TCID_{50}$/ml kod influence A/Denver/1/57.
- 5,0 X $10^{6,5}$ $TCID_{50}$/ml kod influence A/Hongkong/8/68.

4. Unakrsna reaktivnost

Unakrsna reaktivnost brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) procenjena je testiranjem 76 virusa i 37 drugih mikroorganizama (5 replika od svakog). Humani sojevi influence A, kao što se očekivalo, reagovali su sa testnom linijom influence A i nisu unakrsno reagovali sa testnom linijom influence B ili COVID-19. Humani sojevi influence B, kao što se očekivalo, reagovali su sa testnom linijom influence B i nisu unakrsno reagovali sa testnom linijom influence A ili COVID-19. Ne-

humani sojevi influence nisu reagovali sa testnim linijama influence A, B ili COVID-19. Brzi test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) ima unakrsnu reaktivnost sa nukleoproteinom humanog SARS koronavirusa u koncentraciji ≥200 pg/ml zbog toga što SARS-CoV ima visoku homologiju prema SARS-CoV-2 (79,6%).

Testirani virusi		
Nukleoprotein SARS-CoV	Influenca A H1N1 (Kalifornija/07/09)	Influenca A H1N1 (A/Peking/262/1995)
Influenca A H1N1 (A/Nju Džerzi/8/76)	Influenca A H1N1 (A/Denver/1/57)	Influenca H1N1 (A/Portoriko/8/34)
Influenca A H1N1 (A/FM/1/57)	Influenca H3N2 (A/Hongkong/8/68)	Influenca A H3N2 (A/Viktorija/3/75)
Influenca A H3N2 (A/Port Čalmers/1/73)	Influenca A H3N2 (Pert/16/09)	Influenca A H3N2 (Viskonsin/67/05)
Influenca A H5N1 (A/Kina/2006)	Influenca A H5N2 (A/kokoška/ Ajova/04-20/2015)*	Influenca A H7N1 (A/ćurka/Italija/4602/99)*
Influenca A H7N2 (A/šljuka kamenjarka/ Nju Džerzi/563/2006)*	Influenca A H7N7 (A/kokoška/ Holandija/1/03)*	Influenca B (B/Florida/78/2015, loza Viktorija)
Influenca B (B/Florida/4/2006, loza Jamagata)	Influenca B (B/Merilend/1/59, loza Viktorija)	Influenca B (B/GL/1739/54)
Influenca B (B/Tajvan/2/62)	Influenca B (B/Malezija/2506/04, loza Viktorija)	Influenca B (B/Viskonsin/1/2010, loza Jamagata)
Influenca A H1N1 (A/Viskonsin/588/2019)/ (A/Viktorija/2570/2019)	Influenca A H3N2 (A/Kambodža/ e0826360/2020)	Influenca B (B/Puket/3073/2013, loza Jamagata)
Influenca B (B/Vašington/02/2019, loza Viktorija)		

* ne-humani soj influence

Nije bilo unakrsne reakcije sa virusima i mikroorganizmima navedenim u nastavku.

Testirani virusi		
HCoV-HKU1	HCoV-NL63	HCoV-OC43
MERS-CoV	HCoV-229E	Humani adenovirus 1
Humani adenovirus 2	Humani adenovirus 3	Humani adenovirus 4
Humani adenovirus 5	Adenovirus 6	Adenovirus 7
Adenovirus 10	Humani adenovirus 18	Adenovirus 21
Norovirus	Epstein Barr virus	Humani virus herpesa (HSV) 1
Humani virus herpesa (HSV) 2	Humani citomegalovirus	Virus zaušaka
Parainfluenca virus tip 4A	Parainfluenca virus tip 4B	Parainfluenca tip 1
Parainfluenca tip 2	Parainfluenca tip 3	Humani respiratorni sincicijalni virus A
Humani respiratorni sincicijalni virus B	Virus morbila	hMPV 16 tip A1
Humani rinovirus tip 1B	Rinovirus tip A2	Humani rinovirus tip 14
Rinovirus A16	Rotavirus A	Sendai virus
Virus rubeole	Virus koksaki A9	Virus koksaki B4
Virus koksaki B5	Humani ehovirus 2	Humani ehovirus 6
Ehovirus 7	Ehovirus 11	Humani enterovirus 71
Poliovirus 1	Enterovirus D68	

Testirani mikroorganizmi		
Bordetella pertussis	*Mycobacterium avium*	*Staphylococcus epidermidis*
Candida albicans	*Mycobacterium tuberculosis*	*Staphylococcus haemolyticus*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus faecalis	*Neisseria lactamica*	*Streptococcus pneumoniae*
Escherichia coli	*Neisseria gonorrhoeae*	*Streptococcus pyogenes*
Fusobacterium necrophorum	*Neisseria meningitidis*	*Streptococcus salivarius*
Haemophilus influenzae	*Neisseria sp. (Neisseria lactamica)*	*Streptococcus anginosus*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus vulgaris*	*Pneumocitis jirovecci (PJP)*
Legionella pneumophila	*Pseudomonas aeruginosa*	*Grupisano ispiranje humanog nosa*
Moraxella catarrhalis	*Corynebacterium diphtheriae*	*Enterococcus faecium*
Lactobacillus plantarum	*Neisseria sicca*	*Streptococcus agalactiae*
Streptococcus bovis	*Streptococcus oralis*	*Arcanobacterium Haemolyticum*
Staphylococcus aureus		

5. Ometajuće supstance

Sledeće 53 potencijalno ometajuće supstance (5 replika svake) nemaju uticaj na brzi test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) uz izuzetak albumina u koncentracijama >55 g/L.

Tip	Testirane supstance			
Endogena	Mucin	Humana krv	Bilirubin	Antinuklearno antitelo (ANA)
	Krvni lipid	Hemoglobin	Reumatoidni faktor	Humano antimišje antitelo
	Albumin	Mometazon	Lopinavir	Acetilsalicilna kiselina
Egzogena	Fenilefrin	Flutikazon	Ritonavir	Ibuprofen
	Oksimetazolin	Hlorfeniramin	Arbidol	Sumpor
	Natrijum-hlorid	Difenhidramin	Levofloksacin	Luffa opperculata
	Sprej za nos (NasalCrom)	Histamin-dihidrohlorid	Azitromicin	Benzokain
	Sprej za nos (Equate)	Histamin	Meropenem	Mentol
	Beklometazon	Galphimia glauca	Tobramicin	Acetaminofen
	Deksametazon	Histaminum hydrochloricum	Mupirocin	Vodica za ispiranje usta (Crest)
	Flunizolid	Zanamivir	Albuterol	Vodica za ispiranje usta (Listerine)
	Triamcinolon-acetonid	Ribavirin (Rebetol)	Efedrin	Vodica za ispiranje usta (Therabreath)
	Budezonid	Tamiflu (Oseltamivir)	Gvajakol-gliceril-eter	Heparin
	Fenilpropanolamin			

6. Ponovljivost i reproduktibilnost

Ponovljivost i reproduktibilnost brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) utvrđene su pomoću 3 pozitivna uzorka (umerena, slaba, koncentracija blizine LoD) za svaki soj (SARS-CoV-2, influenca A H1N1, influenca A H3N2 i influenca B) i negativnog uzorka. Nije bilo uočenih razlika u toku testiranja, između testiranja, između serija, između centara i dana.

PRIPREMA

1 Kada se čuvaju u frižideru, sve komponente kompleta moraju se dovesti na sobnu temperaturu (15 °C – 30 °C) najmanje 30 minuta pre izvođenja testa. Ne otvarajte kesicu dok komponente ne dostignu sobnu temperaturu.

Napomena: Zdravstveni radnici treba da se pridržavaju smernica za ličnu bezbednost, uključujući upotrebu lične zaštitne opreme.

---

2 **Otvorite paket i potražite sledeće:**

1. Uređaj za testiranje sa sredstvom za sušenje u posebnoj kesici od folije
2. Epruvetu sa puferom za ekstrakciju u kesici od folije
3. Kapicu mlaznice
4. Sterilizovan nazofaringealni štapić za uzimanje uzorka
5. Stalak za epruvete
6. Uputstvo za upotrebu sa Brzim referentnim vodičem

---

3 Pažljivo pročitajte ova uputstva pre upotrebe brzog testa Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP).

---

4 Pogledajte datum roka trajanja na kutiji kompleta. Ako je istekao rok trajanja, izaberite drugi komplet za upotrebu.

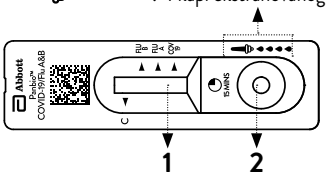
---

5 **Otvorite kesicu od folije uređaja za testiranje i potražite sledeće:**

1. Prozor za rezultat
2. Bunarčić za uzorak

: 4 kapi ekstrahovanog uzorka

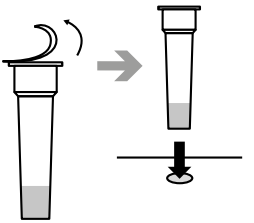
Zatim označite sredstvo identifikatorom pacijenta.



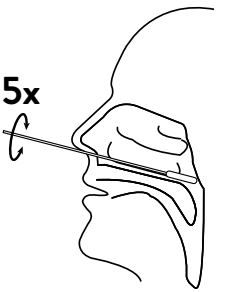
SRPSKI

POSTUPAK TESTIRANJA

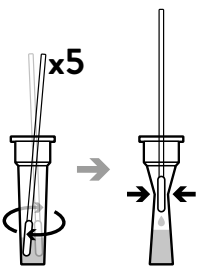
1 Držite epruvetu sa puferom za ekstrakciju uspravno i uklonite foliju. Postavite epruvetu sa puferom za ekstrakciju u stalak za epruvete.



2 Nagnite glavu pacijenta unazad (oko 45°–70°). Umetnite štapić kroz nozdrvu. Blago protrljajte i rotirajte štapić 5 puta. Ostavite štapić na mestu nekoliko sekundi. Polako izvucite štapić.



3 Umetnite uzorak brisa u epruvetu sa puferom za ekstrakciju. Zavrtite vrh štapića u puferskoj tečnosti u epruveti sa puferom za ekstrakciju, pritiskajući ga uza zid epruvete za ekstrakciju uzorka najmanje pet puta, a zatim iscedite štapić tako što ćete prstima pritisnuti epruvetu sa puferom za ekstrakciju.

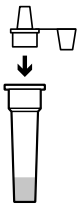


4 Odložite u otpad iskorišćeni štapić u skladu sa lokalnim propisima i protokolom za odlaganje biološkog opasnog otpada.



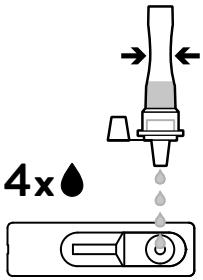
POSTUPAK TESTIRANJA

5 Čvrsto pritisnite kapicu mlaznice na epruvetu sa puferom za ekstrakciju.



6 Sipajte 4 kapi ekstrahovanog uzorka vertikalno u bunarčić za uzorak na uređaju.

⚠ **Oprez:** Ne dirajte i ne pomerajte uređaj za testiranje dok se test ne završi i ne bude spreman za očitavanje.



SRPSKI

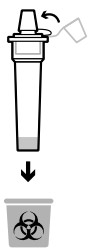
7 Pokrenite tajmer. Očitajte rezultat nakon 15 minuta.

Ne očitavajte rezultat ako prođe više od 20 minuta.

Napomena: Kontrolna linija („C“) se može pojaviti u prozoru za rezultat za nekoliko minuta, ali pojavljivanje testne linije („FLU B“, „FLU A“, „COV 19“) može potrajati i do 15 minuta.



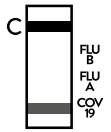
8 Zatvorite mlaznicu kapicom i odložite u otpad epruvetu sa puferom za ekstrakciju u skladu sa lokalnim propisima i protokolom za odlaganje biološkog opasnog otpada.



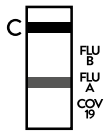
TUMAČENJE TESTA

POZITIVAN

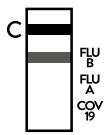
- **Pozitivan na COVID-19:** Prisustvo dve linije u boji (linija testiranja „COV 19“ i kontrolna linija „C“) u prozoru za rezultat.



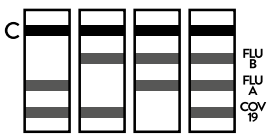
- **Pozitivan na influencu A:** Prisustvo dve linije u boji (testna linija „FLU A“ i kontrolna linija „C“) u prozoru za rezultat.



- **Pozitivan na influencu B:** Prisustvo dve linije u boji (testna linija „FLU B“ i kontrolna linija „C“) u prozoru za rezultat.



- **Multipozitivni:** Prisustvo tri ili četiri linije u boji (testna linija „FLU B“, „FLU A“, „COV 19“ i kontrolna linija „C“) u prozoru za rezultat.



SRPSKI

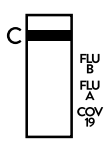
⚠ **Oprez:** Prisustvo bilo koje testne linije („FLU B“, „FLU A“, „COV 19“), bez obzira na to koliko je bleda, ukazuje na pozitivan rezultat.

Napomena: U slučaju multipozitivnih rezultata, korisnik treba da bude svestan ove jedinstvene situacije, jer oba oboljenja mogu da se pojave sa sličnim simptomima, ali se razlikuju u lečenju.

Imajte na umu da test pruža preliminarne rezultate testa.

NEGATIVAN

Prisustvo samo kontrolne linije („C“) bez testne linije („FLU B“, „FLU A“, „COV 19“) unutar prozora za rezultat ukazuje na negativan rezultat.

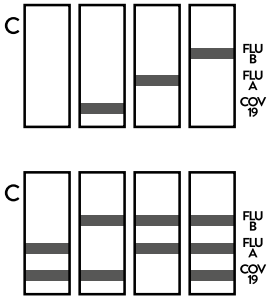


TUMAČENJE TESTA

NEVAŽEĆI

Ako kontrolna linija („C“) nije vidljiva u okviru prozora za rezultat nakon obavljanja testa, rezultat se smatra nevažećim (iako je testna linija možda vidljiva).

Možda niste pravilno sledili uputstva. Preporučuje se da sačekate 4 sata, ponovo pročitate Uputstvo za upotrebu i uzmete novi uzorak i ponovo testirate pomoću novog uređaja za testiranje.



---

9 Odložite u otpad iskorišćeni uređaj u skladu sa lokalnim propisima i protokolom za odlaganje biološkog opasnog otpada.



SRPSKI

Информация о тесте

RU

Введение

Коронавирусная болезнь (COVID-19) — это инфекционное заболевание, вызванное недавно открытым коронавирусом, а именно коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома-2 (SARS-CoV-2).[1] SARS-CoV-2 представляет собой β-коронавирус — оболочечный несегментированный РНК-вирус.[2] Он передается от человека к человеку воздушно-капельным или контактным путем. Согласно имеющимся в настоящее время данным эпидемиологического исследования, инкубационный период составляет от 1 до 14 дней, преимущественно от 3 до 7 дней. Среди пациентов с пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, наиболее распространенным симптомом была лихорадка, вторым по частоте появления оказался кашель.[3] Грипп — это инфекционное заболевание, вызываемое вирусами гриппа.[4] Симптомы варьируются от легких до тяжелых и часто включают лихорадку, насморк, боль в горле, боль в мышцах, головную боль, кашель и усталость. Эти симптомы обычно проявляются через 1–4 дня после контакта с вирусом и продолжаются в течение 2–8 дней.[5]

РУССКИЙ

Принцип работы теста

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal) содержит ленту с мембраной, предварительно покрытую иммобилизованными антигенами SARS-CoV-2, вируса гриппа типа A и типа B на тестовой линии и мышиными моноклональными антителами к IgY курицы на контрольной линии. Четыре типа конъюгата коллоидного золота (моноклональные антитела, специфичные к конъюгатам коллоидного золота и SARS-CoV-2, вируса гриппа типа A и вируса гриппа типа B, а также конъюгат коллоидного золота и IgY курицы) хроматографически движутся вверх по мембране и реагируют с антителами SARS-CoV-2, вируса гриппа типа A, вируса гриппа типа B и предварительно нанесенными мышиными моноклональными антителами к IgY курицы соответственно. Для положительного результата каждый патоген SARS-CoV-2, вируса гриппа типа A и вируса гриппа типа B должен образовать тестовую линию в окне результатов. Тестовые линии и контрольная линия невидимы в окне результатов до нанесения образца пациента. Чтобы подтвердить действительность результата теста, требуется наблюдение контрольной линии.

Назначение

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) — это диагностический экспресс-тест *in vitro*, предназначенный для качественного обнаружения антигена (Ag) SARS-CoV-2 и гриппа A и B в образцах мазков из носоглотки, взятых у людей, которые соответствуют клиническим и (или) эпидемиологическим критериям COVID-19 и (или) гриппа.

Устройство Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) предназначена для профессионального применения и является вспомогательным средством диагностики инфекции SARS-CoV-2 и гриппа. Продукт может использоваться как в условиях лаборатории, так и вне ее.

Тестовое устройство позволяет получить предварительные результаты анализа. Отрицательный результат не исключает наличия инфекции SARS-CoV-2, гриппа типов A или B и не может использоваться как единственное основание для назначения лечения или принятия других решений по ведению пациента. Отрицательные результаты необходимо оценивать в сочетании с данными клинических наблюдений, анамнезом пациента и эпидемиологической информацией.

Материалы в комплекте

- 10 тест-систем с осушителем в индивидуальных пакетах из фольги
- 10 экстракционных пробирок с буферным раствором в пакете из фольги
- 10 крышек с носиком
- 10 стерилизованных носоглоточных тампонов для взятия образцов
- 1 штатив для пробирок
- 1 инструкция по применению с кратким справочным руководством

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Средства индивидуальной защиты согласно местным рекомендациям (т. е. медицинский или лабораторный халат, маска для лица, щиток для лица / очки и перчатки).
- Таймер.
- Контейнер для биологически опасных отходов.

Действующие вещества основных компонентов

- тест-система.
  Конъюгат коллоидного золота: моноклональные антитела к антигенам SARS-CoV-2, вируса гриппа типов A и B — коллоидное золото, IgY курицы — коллоидное золото; тестовые линии: мышиные моноклональные антитела к SARS-CoV-2, мышиные моноклональные антитела к вирусу гриппа типа A и антигенсвязывающие фрагменты антител к вирусу гриппа типа B; контрольная линия: мышиные моноклональные антитела к IgY курицы.
- Буферный раствор: трицин, хлорид натрия, Tween 20, Tergitol 15-S-9, азид натрия (< 0,1 %).

Условия хранения и стабильность тестового набора

1. Тестовый набор необходимо хранить при температуре от 2 до 30 °C. Не замораживайте набор или его компоненты.

2. Если набор хранится в холодильнике, необходимо дать всем его компонентам нагреться до комнатной температуры (15–30 °C) не менее чем за 30 минут до проведения теста. Не открывайте пакет, пока компоненты не нагреются до комнатной температуры.
3. Выполните тест сразу после извлечения тест-системы из пакета из фольги.
4. Не используйте тестовый набор после истечения срока годности.
5. Срок годности набора указан на наружной упаковке.
6. Не используйте тестовый набор, если пакет поврежден или нарушена запайка.
7. Взятые тампоном образцы необходимо тестировать сразу после сбора. Если немедленное тестирование невозможно, допускается хранение образца на тампоне в экстракционной пробирке, заполненной экстракционным буферным раствором, при комнатной температуре (15–30 °C) в течение не более 2 часов до тестирования.

Предупреждения

1. Только для диагностики *in vitro*. Не используйте тест-систему и компоненты набора повторно.
2. Чтобы получить точные результаты, обученный медицинский работник должен строго следовать этим инструкциям. Перед выполнением теста все пользователи обязаны прочитать инструкции.
3. Не ешьте и не курите во время работы с образцами.
4. При работе с образцами используйте защитные перчатки и тщательно мойте руки по окончании.
5. Избегайте разбрызгивания или образования аэрозоля образца и буфера.
6. Тщательно удалите пролитые материалы с помощью надлежащего дезинфицирующего средства.
7. Обеззаразьте все образцы, реакционные наборы и потенциально загрязненные материалы (т. е. тампон, экстракционную пробирку с буферным раствором, тест-систему) и поместите их в контейнер для биологически опасных отходов, как если бы они были инфекционными отходами. Утилизируйте в соответствии с применимыми местными нормативами.
8. Не смешивайте и не меняйте местами разные образцы.
9. Не смешивайте реагенты с реагентами для других продуктов.
10. Не храните набор для выполнения теста под воздействием прямых солнечных лучей.
11. Во избежание загрязнения при открывании пакета с тампоном не прикасайтесь к головке тампона.

12. Стерилизованные тампоны следует использовать только для взятия образцов из носоглотки.
13. Во избежание перекрестного загрязнения не используйте тампоны для забора образцов повторно.
14. Не смачивайте собранный тампон никаким раствором, кроме предоставленного буферного.
15. Буферный раствор содержит в качестве консерванта < 0,1 % азида натрия, который может быть токсичным при проглатывании. При утилизации в систему канализации промойте большим объемом воды.[6]

Процедура анализа (см. рисунки)

Образцы, получаемые с помощью тампона для взятия мазков из носоглотки

Примечание. Медицинские работники должны следовать методическим рекомендациям по технике безопасности, включая использование средств индивидуальной защиты.

Подготовка к тесту

1. Если набор хранится в холодильнике, необходимо дать всем его компонентам нагреться до комнатной температуры (15–30 °C) не менее чем за 30 минут до проведения теста. Не открывайте пакет, пока компоненты не нагреются до комнатной температуры.
2. Достаньте тест-систему из пакета из фольги. Расположите ее на ровной горизонтальной чистой поверхности.
3. Держите пробирку с экстракционным буферным раствором вертикально и снимите фольгу. Поставьте пробирку с экстракционным буферным раствором в штатив для пробирок.

Сбор и извлечение образцов из носоглотки

1. Слегка отклоните голову пациента назад на 45–70°, чтобы выпрямить проход, идущий от передней части носа.
2. Через ноздрю вставьте тампон параллельно нёбу.
   ⚠ **Внимание!** Используйте специальный носоглоточный тампон для взятия образца, входящий в комплект.
3. Тампон должен достигать глубины, равной расстоянию от ноздрей до отверстия наружного слухового прохода.
   ⚠ **Внимание!** Если при введении тампона возникает сопротивление, извлеките его и попытайтесь вставить в другую ноздрю.
4. Аккуратно проверните тампон и проведите им по слизистой, выполните пять таких движений. Оставьте тампон на месте на несколько секунд, чтобы впитались выделения.
5. Вращая, медленно извлеките тампон и вставьте в пробирку с экстракционным буферным раствором.

6. Проверните кончик тампона в буферной жидкости в экстракционной пробирке, придавливая его к стенке пробирки, по крайней мере пять раз, а затем выжмите тампон, сжав экстракционную пробирку с буферным раствором пальцами.
7. Утилизируйте использованный тампон в соответствии с местными нормативами и протоколом по утилизации биологически опасных отходов.
8. Плотно наденьте крышку с носиком на экстракционную пробирку с буферным раствором.

Реакция с помощью тест-системы

1. Вертикально нанесите четыре капли экстрагированного образца в предназначенную для образца лунку тест-системы.
   ⚠ **Внимание!** Не трогайте и не двигайте тест-систему до завершения теста и готовности к оценке результатов.
2. Запустите таймер. Оцените результат через 15 минут. Не оценивайте результат до истечения 15 минут или по прошествии 20 минут.
3. Закройте носик крышкой и утилизируйте экстракционную пробирку с буферным раствором в соответствии с местными нормативами и протоколом по утилизации биологически опасных отходов.
4. Утилизируйте использованное устройство в соответствии с местными нормативами и протоколом по утилизации биологически опасных отходов.

Ограничения теста

1. Содержимое данного набора предназначено для профессионального и качественного определения антигенов SARS-CoV-2 и вируса гриппа типов A и B в мазке из носоглотки. Другие типы образцов могут привести к искажению результатов и не должны быть использованы.
2. Несоблюдение инструкций по процедуре анализа и интерпретации результатов может негативно повлиять на проведение теста и (или) привести к недостоверным результатам.
3. Отрицательный результат теста может быть получен, если образец был взят, извлечен или транспортирован ненадлежащим образом. Отрицательный результат теста не исключает наличия инфекции SARS-CoV-2 или гриппа типов A и B и должен быть подтвержден методом выделения вирусной культуры или молекулярным анализом.
4. Положительные результаты теста не исключают сопутствующие инфекции с другими патогенами.
5. Результаты тестов должны оцениваться в сочетании с другими имеющимися у врача клиническими данными.

6. Чтение результатов теста ранее, чем через 15 минут или позже, чем через 20 минут может привести к искажению результатов.
7. Панель Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) не предназначена для выявления дефектного (неинфекционного) вируса на более поздних стадиях вирусовыделения. Такой вирус можно обнаружить с помощью молекулярных тестов ПЦР.[7]
8. Положительные результаты могут быть получены в случаях инфицирования SARS-CoV или быть результатом реакции с альбумином.
9. Продукт Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP), в соответствии с методическими рекомендациями ВОЗ, не оценивался на следующие штаммы гриппа: A/Darwin/9/2021 (H3N2), B/Austria/1359417/2021.
10. Подождите четыре часа после недействительного результата, прежде чем проводить повторный тест.
11. Клиническая эффективность оценивалась с использованием замороженных образцов, и эффективность теста для свежих образцов может быть иной.

Контроль качества

Процедурный контроль

тест-система имеет на поверхности контрольную линию (C) и тестовые линии (FLU B, FLU A, COV 19). Тестовые линии и контрольная линия невидимы в окне результатов до нанесения образца. Контрольная линия используется для процедурного контроля и всегда должна появляться, если процедура анализа выполнена правильно и тестовые реагенты контрольной линии работают.

Внешний контроль

Принципы надлежащей лабораторной практики предполагают использование материалов для внешнего контроля. Пользователи должны следовать национальным, региональным и местным методическим рекомендациям в отношении частоты проведения внешнего контроля. Положительные контрольные образцы для данной тест-системы можно заказать, используя следующий номер по каталогу: 62FK11C.

Рабочие характеристики

1. **Клиническая эффективность теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) с образцом из носоглотки**
   Тест Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) предусматривает взятие мазка из носоглотки, через одну ноздрю. Эффективность теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) устанавливали с помощью мазков из носоглотки, протестированных в Корее в сентябре 2021 года: 100 образцов, положительных на COVID-19,

50 образцов, положительных на грипп типа A, 50 образцов, положительных на грипп типа B и 200 образцов, отрицательных на COVID-19 и антиген гриппа типов A и B.

Образцы брали у пациентов с симптомами гриппа типов A и B и (или) COVID-19. Один образец тестировали с помощью теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP), а другой — с проведением ПЦР. Мазки собирали и экстрагировали в среду для транспортировки вирусов. Образцы замораживали после сбора и размораживали перед анализом. Эффективность теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) оценивалась путем сравнения с имеющим маркировку CE методом ОТ-ПЦР.

Исследование показало чувствительность 88,0 % (95 % ДИ: 80,0–93,6 %) и специфичность 100,0 % (95 % ДИ: 98,2–100,0 %) в отношении SARS-CoV-2, чувствительность 92,0 % (95 % ДИ: 80,8–97,8 %) и специфичность 100,0 % (95 % ДИ: 98,2–100,0 %) в отношении вируса гриппа типа A, а также чувствительность 100,0 % (95 % ДИ: 92,9–100,0 %) и специфичность 100,0 % (95 % ДИ: 98,2–100,0 %) для гриппа типа B.

Результаты анализа образцов из носоглотки на наличие COVID-19 при использовании теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)

SARS-CoV-2		ОТ-ПЦР			Общая чувствительность (95 % ДИ)	Общая специфичность (95 % ДИ)
		Положительный результат	Отрицательный результат	Всего		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Положительный результат	88	0	88	88,0 % (80,0–93,6 %)	100,0 % (98,2–100,0 %)
	Отрицательный результат	12	200	212		
	Всего	100	200	300		

- При применении Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) для тестирования на SARS-CoV-2 совпадение положительных результатов выше для образцов со значениями Ct ≤ 30, чувствительность 94,4 % (95 % ДИ: 87,5–98,3 %) и ниже для образцов со значениями Ct > 30, чувствительность 30,0 % (95 % ДИ: 6,7–65,3 %). В соответствии с данными, приведенными в источниках 7–9 из списка литературы, пациенты со значением Ct > 30 более не являются передающими инфекцию.[7, 8, 9]

Результаты анализа образцов из носоглотки на наличие вируса гриппа типа A при использовании теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)

Грипп типа A		ОТ-ПЦР			Общая чувствительность (95 % ДИ)	Общая специфичность (95 % ДИ)
		Положительный результат	Отрицательный результат	Всего		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Положительный результат	46	0	46	92,0 % (80,8–97,8 %)	100,0 % (98,2–100,0 %)
	Отрицательный результат	4	200	204		
	Всего	50	200	250		

Результаты анализа образцов из носоглотки на наличие вируса гриппа типа B при использовании теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)

Грипп типа B		ОТ-ПЦР			Общая чувствительность (95 % ДИ)	Общая специфичность (95 % ДИ)
		Положительный результат	Отрицательный результат	Всего		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Положительный результат	50	0	50	100,0 % (92,9–100,0 %)	100,0 % (98,2–100,0 %)
	Отрицательный результат	0	200	200		
	Всего	50	200	250		

2. Предел обнаружения

Предел обнаружения теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) определялся для следующих штаммов вирусов:

- 1,54 X 10^2 $TCID_{50}$/мл SARS-CoV-2, выделенный от пациента с подтвержденным COVID-19 в Корее;
- 4,07 X 10^2 $TCID_{50}$/мл штамма вируса гриппа типа A H1N1/

California/07/09;

- 1,14 X 10^2 $TCID_{50}$/мл штамма вируса гриппа типа A H3N2/Perth/16/09;
- 2,46 X 10^4 ME/мл штамма вируса гриппа типа B/Wisconsin/1/2010.

Указанные штаммы вируса гриппа типа А были получены от компании ZeptoMetrix с информацией о титрах. Характеристики вируса гриппа типа А могут варьироваться в зависимости от подтипа, региона и года возникновения, поскольку вирусы гриппа типа А претерпели незначительные изменения относительно аминокислот в области эпитопов-мишеней.

3. Хук-эффект

Хук-эффект отсутствует в случае:

- 1,0 X $10^{5,8}$ $TCID_{50}$/мл культуральной жидкости SARS-CoV-2, выделенной от пациента с подтвержденным COVID-19 в Корее;
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/мл штамма вируса гриппа типа A H1N1/ California/07/09
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/мл штамма вируса гриппа типа A H3N2/ Perth/16/09;
- 1,40 X 10^7 ME/мл штамма вируса гриппа типа B/Wisconsin/1/2010.
- 5,0 X $10^{7,25}$ $TCID_{50}$/мл штамма вируса гриппа типа A H1N1/New Jersey/8/76.
- 3,40 X 10^9 $TCID_{50}$/мл штамма вируса гриппа типа A/Denver/1/57.
- 5,0 X $10^{6,5}$ $TCID_{50}$/ мл штамма вируса гриппа типа A/Hong Kong/8/68.

4. Перекрестная реактивность

Перекрестная реактивность теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) была оценена путем тестирования 76 вирусов и 37 других микроорганизмов (по пять повторов каждого). Штаммы вируса гриппа типа А человека, как и ожидалось, дали реакцию с тестовой линией гриппа типа А и не дали перекрестной реакции с тестовыми линиями гриппа типа В или COVID-19. Штаммы вируса гриппа типа В человека, как и предполагалось, дали реакцию с тестовой линией гриппа типа В и не дали перекрестной реакции с тестовыми линиями гриппа типа А или COVID-19. Штаммы гриппа нечеловеческого происхождения не реагировали с тестовыми линиями вируса гриппа типов А, В или COVID-19. Тест Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) обладает перекрестной реактивностью с нуклеопротеином коронавируса человека-SARS при концентрации ≥ 200 пг/мл, поскольку SARS-CoV имеет значительное сходство с SARS-CoV-2 (79,6 %).

Анализируемые вирусы		
Нуклеопротеин SARS-CoV	Штамм вируса гриппа типа A H1N1 (California/07/09)	Штамм вируса гриппа типа A H1N1 (A/Beijing/262/1995)
Штамм вируса гриппа типа A H1N1 (A/New Jersey/8/76)	Штамм вируса гриппа типа A H1N1 (A/Denver/1/57)	Штамм вируса гриппа типа A H1N1 (A/Puerto Rico/8/34)
Штамм вируса гриппа типа A H1N1 (A/ FM/1/47)	Штамм вируса гриппа типа A H3N2 (A/Hong Kong/8/68)	Штамм вируса гриппа типа A H3N2 (A/Victoria/3/75)
Штамм вируса гриппа типа A H3N2 (A/Port Chalmers/1/73)	Штамм вируса гриппа типа A H3N2 (Perth/16/09)	Штамм вируса гриппа типа A H3N2 (Wisconsin/67/05)
Штамм вируса гриппа типа A H5N1 (A/China/2006)	Штамм вируса гриппа типа A H5N2 (A/chicken/ Iowa/04-20/2015)*	Штамм вируса гриппа типа A H7N1 (A/turkey/ Italy/4602/99)*
Штамм вируса гриппа типа A H7N2 (A/ruddy turnstone/ New Jersey/563/2006)*	Штамм вируса гриппа типа A H7N7 (A/chicken/ Netherlands/1/03)*	Штамм вируса гриппа типа B (B/Florida/ 78/2015, Victoria Lineage)
Штамм вируса гриппа типа B (B/Florida/4/2006, Yamagata Lineage)	Штамм вируса гриппа типа B (B/Maryland/1/59, Victoria Lineage)	Штамм вируса гриппа типа B (B/GL/1739/54)
Штамм вируса гриппа типа B (B/ Taiwan/2/62)	Штамм вируса гриппа типа B (B/ Malaysia/2506/04, Victoria Lineage)	Штамм вируса гриппа типа B (B/Wisconsin/1/2010, Yamagata Lineage)
Штамм вируса гриппа типа A H1N1 (A/ Wisconsin/588/2019)/(A/ Victoria/2570/2019)	Штамм вируса гриппа типа A H3N2 (A/Cambodia/ e0826360/2020)	Штамм вируса гриппа типа B (B/ Phuket/3073/2013, Yamagata Lineage)
Штамм вируса гриппа типа B (B/ Washington/02/2019, Victoria Lineage)		

* Штамм гриппа нечеловеческого происхождения

Перекрестной реакции с перечисленными ниже вирусами и микроорганизмами не наблюдалось.

Анализируемые вирусы		
HCoV-HKU1	HCoV-NL63	HCoV-OC43
MERS-CoV	HCoV-229E	Аденовирус человека типа 1
Аденовирус человека типа 2	Аденовирус человека типа 3	Аденовирус человека типа 4
Аденовирус человека типа 5	Аденовирус типа 6	Аденовирус типа 7
Аденовирус типа 10	Аденовирус человека типа 18	Аденовирус типа 21
Норовирус	Вирус Эпштейна — Барр	Вирус герпеса человека (ВПГ–1)
Вирус герпеса человека (ВПГ–2)	Цитомегаловирус человека	Вирус эпидемического паротита
Вирус парагриппа типа 4A	Вирус парагриппа типа 4B	Парагрипп 1 типа
Парагрипп 2 типа	Парагрипп 3 типа	Респираторно-синцитиальный вирус типа A
Респираторно-синцитиальный вирус типа B	Вирус кори	Метапневмовирус человека (hMPV) 16 тип A1
Риновирус человека типа 1B	Риновирус типа A2	Риновирус человека типа 14
Риновирус типа A16	Ротавирус типа A	Вирус Сендай
Вирус краснухи	Вирус Коксаки типа A9	Вирус Коксаки типа B4
Вирус Коксаки типа B5	Эховирус человека типа 2	Эховирус человека типа 6
Эховирус типа 7	Эховирус типа 11	Энтеровирус человека типа 71
Полиовирус типа 1	Энтеровирус типа D68	

Исследуемые микроорганизмы		
Bordetella pertussis	*Mycobacterium avium*	*Staphylococcus epidermidis*
Candida albicans	*Mycobacterium tuberculosis*	*Staphylococcus haemolyticus*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus faecalis	*Neisseria lactamica*	*Streptococcus pneumoniae*
Escherichia coli	*Neisseria gonorrhoeae*	*Streptococcus pyogenes*
Fusobacterium necrophorum	*Neisseria meningitidis*	*Streptococcus salivarius*
Haemophilus influenzae	*Neisseria sp. (Neisseria lactamica)*	*Streptococcus anginosus*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus vulgaris*	*Pneumocytis jirovecci(PJP)*
Legionella pneumophila	*Pseudomonas aeruginosa*	*Объединенный смыв из носовой полости*
Moraxella catarrhalis	*Corynebacterium diphtheriae*	*Enterococcus faecium*
Lactobacillus plantarum	*Neisseria sicca*	*Streptococcus agalactiae*
Streptococcus bovis	*Streptococcus oralis*	*Arcanobacterium haemolyticum*
Staphylococcus aureus		

5. Вещества, искажающие результаты

Следующие 53 потенциально искажающих результаты вещества (пять повторов каждого) не влияют на тест Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP), за исключением альбумина в концентрациях > 55 г/л.

Тип	Анализируемые вещества			
Эндогенный	Муцин	Кровь человека	Билирубин	Антинуклеарные антитела (ANA)
	Липиды крови	Гемоглобин	Ревматоидный фактор	Человеческие антитела к Ig мыши
	Альбумин	Мометазон	Лопинавир	Ацетилсалициловая кислота
Экзогенный	Фенилэфрин	Флутиказон	Ритонавир	Ибупрофен
	Оксиметазолин	Хлорфенирамин	Арбидол	Сера
	Натрия хлорид	Дифенгидрамин	Левофлоксацин	Люффа прикрытая (Luffa opperculata)
	Назальный спрей (NasalCrom)	Гистамина дигидрохлорид	Азитромицин	Бензокаин
	Назальный спрей (Equate)	Гистамин	Меропенем	Ментол
	Беклометазон	Триаллис сизый (Galphimia glauca)	Тобрамицин	Ацетаминофен
	Дексаметазон	Гистамина гидрохлорид	Мупироцин	Средство для полоскания рта (Crest)
	Флунизолид	Занамивир	Альбутерол	Средство для полоскания рта (Листерин)
	Триамцинолона ацетонид	Рибавирин (Rebetol)	Эфедрин	Средство для полоскания рта (Therabreath)
	Будесонид	Tamiflu (осельтамивир)	Гваякол глицериновый эфир	Гепарин
	Фенилпропаноламин			

6. Повторяемость и воспроизводимость

Повторяемость и воспроизводимость результатов теста Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) были установлены при использовании трех образцов с положительным результатом (умеренная, слабая, LoD концентрация) на каждый штамм (SARS-CoV-2, вирус гриппа типа A H1N1, вирус гриппа типа A H3N2 и вирус гриппа типа B) и образца с отрицательным результатом. Не было обнаружено внутрисерийных и межсерийных различий, а также различий между партиями, участками и днями.

ПОДГОТОВКА

1 Если набор хранится в холодильнике, необходимо дать всем его компонентам нагреться до комнатной температуры (15–30 °C) не менее чем за 30 минут до проведения теста. Не открывайте пакет, пока компоненты не нагреются до комнатной температуры.

Примечание. Медицинские работники должны следовать методическим рекомендациям по технике безопасности, включая использование средств индивидуальной защиты.

---

2 **Откройте упаковку и проверьте наличие указанных далее предметов.**

1. тест-система с осушителем в индивидуальном пакете из фольги.
2. Экстракционная пробирка с буферным раствором в пакете из фольги.
3. Крышка с носиком.
4. Стерилизованный носоглоточный тампон для взятия образцов
5. Штатив для пробирок.
6. Инструкция по применению с кратким справочным руководством

---

3 Внимательно прочитайте эти инструкции, прежде чем использовать тест Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP).

---

4 Проверьте срок годности на коробке с набором. Если срок годности набора истек, возьмите вместо него другой.

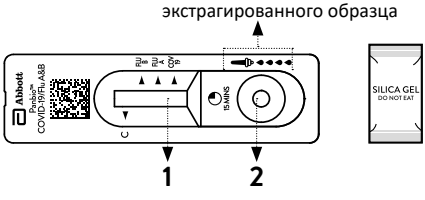
---

5 **Откройте пакет из фольги с тест-системой и найдите указанные далее элементы.**

1. Окно результатов.
2. Лунка для образцов.

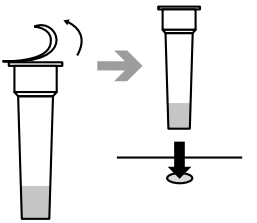
: четыре капли экстрагированного образца

Затем промаркируйте систему идентификатором пациента.

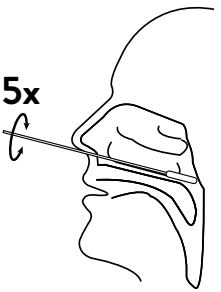


ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

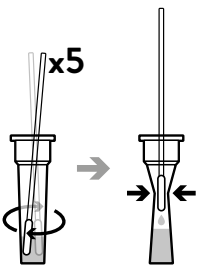
1 Держите пробирку с экстракционным буферным раствором вертикально и снимите фольгу. Поставьте пробирку с экстракционным буферным раствором в штатив для пробирок.



2 Отклоните голову пациента назад (около 45°–70°). Вставьте тампон через ноздрю. Аккуратно проверните тампон и проведите им по слизистой, выполните пять таких движений. Оставьте тампон на месте на несколько секунд. Медленно удалите тампон.



3 Вставьте тампон с образцом в экстракционную пробирку с буферным раствором. Проверните кончик тампона в буферной жидкости в экстракционной пробирке, придавливая его к стенке пробирки, по крайней мере пять раз, а затем выжмите тампон, сжав экстракционную пробирку с буферным раствором пальцами.

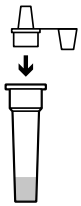


4 Утилизируйте использованный тампон в соответствии с местными нормативами и протоколом по утилизации биологически опасных отходов.



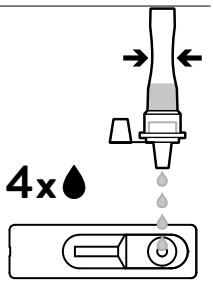
ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

5 Плотно наденьте крышку с носиком на экстракционную пробирку с буферным раствором.



6 Вертикально нанесите четыре капли экстрагированного образца в предназначенную для образца лунку тест-системы.

⚠ **Внимание!** Не трогайте и не двигайте тест-систему до завершения теста и готовности к оценке результатов.



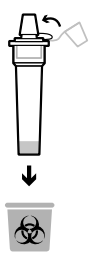
7 Запустите таймер. Оцените результат через 15 минут.

Не оценивайте результат по прошествии более 20 минут.

Примечание.
Контрольная (C) линия может появиться в окне результатов через несколько минут, однако для появления тестовых линий (FLU B, FLU A, COV 19) может понадобиться до 15 минут.



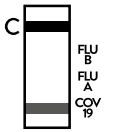
8 Закройте носик крышкой и утилизируйте экстракционную пробирку с буферным раствором в соответствии с местными нормативами и протоколом по утилизации биологически опасных отходов.



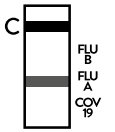
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТА

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

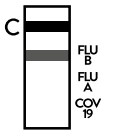
- **Положительный результат на COVID-19:** наличие двух цветных линий (тестовая линия COV 19 и контрольная линия C) в окне результатов.



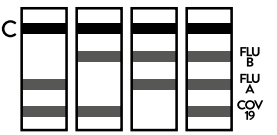
- **Положительный результат на грипп A:** наличие двух цветных линий (тестовая линия FLU A и контрольная линия C) в окне результатов.



- **Положительный результат на грипп B:** наличие двух цветных линий (тестовая линия FLU B и контрольная линия C) в окне результатов.



- **Множественные положительные результаты:** наличие трех или четырех цветных линий (тестовые линии FLU B, FLU A, COV 19 и контрольная линия C) в окне результатов.



РУССКИЙ

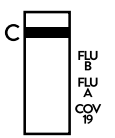
⚠ **Внимание!** Наличие любой тестовой линии (FLU B, FLU A, COV 19), независимо от ее насыщенности, указывает на положительный результат.

Примечание. В случае множественных положительных результатов пользователь должен знать об этой уникальной ситуации, поскольку оба заболевания могут иметь похожие симптомы, но различаются в лечении.

Обратите внимание, что тест-система позволяет получить предварительные результаты анализа.

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

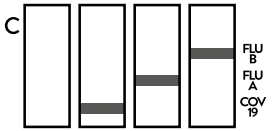
Наличие только контрольной линии (C) и отсутствие тестовой линии (FLU B, FLU A, COV 19) в окне результатов указывает на отрицательный результат.



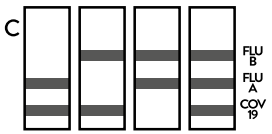
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТА

НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Если после выполнения теста в окне результатов отсутствует контрольная линия (C), его результат оценивается как недействительный (даже если видна тестовая линия).



Возможно, инструкции выполнены неправильно. Рекомендуется подождать четыре часа, снова прочитать инструкцию по применению, взять новый образец и повторно провести тест с использованием нового тестового устройства.



9 Утилизируйте использованное устройство в соответствии с местными нормативами и протоколом по утилизации биологически опасных отходов.



РУССКИЙ

Informacje o teście

PL

Wprowadzenie

Choroba koronawirusowa (COVID-19) to choroba zakaźna wywoływana przez nowo odkrytego koronawirusa zespołu ciężkiej, ostrej niewydolności oddechowej 2 (SARS-CoV-2).[1] SARS-CoV-2 to β-koronawirus, który jest osłonkowym wirusem z niesegmentowanym RNA o dodatniej polarności.[2] Rozprzestrzenia się poprzez przenoszenie z człowieka na człowieka drogą kropelkową lub przez bezpośredni kontakt. Aktualne badania epidemiologiczne wskazują, że okres inkubacji wynosi od 1 do 14 dni, przeważnie od 3 do 7 dni. Wśród pacjentów z zapaleniem płuc wywołanym przez SARS-CoV-2 najczęstszym objawem była gorączka, a następnie kaszel.[3] Grypa to choroba zakaźna wywoływana przez wirusy grypy.[4] Objawy wahają się od łagodnych do ciężkich, często obejmując gorączkę, katar, ból gardła, ból mięśni, ból głowy, kaszel i zmęczenie. Objawy te zwykle pojawiają się w ciągu 1–4 dni od narażenia na kontakt z wirusem i trwają około 2–8 dni.[5]

POLSKI

Zasada działania testu

Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal) zawiera pasek membranowy, który jest wstępnie opłaszczony immobilizowanymi przeciwciałami przeciwko SARS-CoV-2, przeciwko grypie typu A i przeciwko grypie typu B na linii testowej oraz mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko kurzej immunoglobulinie IgY na linii kontrolnej. Cztery rodzaje koniugatów złota (koniugaty przeciwciał monoklonalnych swoistych dla SARS-CoV-2, grypy typu A i grypy typu B ze złotem oraz koniugat kurzej immunoglobuliny IgY ze złotem) migrują chromatograficznie w górę po membranie i reagują odpowiednio z przeciwciałami przeciwko SARS-CoV-2, przeciwko grypie typu A, przeciwko grypie typu B oraz z wstępnie opłaszczonym immobilizowanym mysim przeciwciałem monoklonalnym przeciwko kurzej immunoglobulinie IgY. W przypadku wyniku dodatniego każdy z patogenów, tj. SARS-CoV-2, grypa typu A i grypa typu B, utworzy linię testową w okienku wyników. Przed nałożeniem próbki pacjenta w okienku wyników nie jest widoczna ani linia testowa, ani linia kontrolna. Widoczna linia kontrolna jest wymagana, aby móc uznać wynik testu za ważny.

Przeznaczenie

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) to szybki test do diagnostyki *in vitro* w celu jakościowego wykrywania antygenu SARS-CoV-2 oraz grypy typu A i B w ludzkich próbkach wymazów z nosogardzieli pochodzących od osób spełniających kliniczne i/lub epidemiologiczne kryteria dotyczące COVID-19 i/lub grypy.

Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) jest przeznaczony do użycia przez fachowy personel, jako pomoc w rozpoznawaniu zakażenia wirusem SARS-CoV-2 i grypy. Produkt może być stosowany w środowisku laboratoryjnym i pozalaboratoryjnym.

Wyniki uzyskane w teście mają charakter wstępny. Wyniki ujemne nie wykluczają

zakażenia wirusem SARS-CoV-2 lub grypy typu A i B, a zatem nie mogą być wykorzystywane jako jedyna podstawa do podejmowania decyzji terapeutycznych i innych decyzji dotyczących dalszego postępowania. Wyniki ujemne powinny być interpretowane w połączeniu z obserwacjami klinicznymi, wywiadem medycznym pacjenta i informacjami epidemiologicznymi.

Dostarczone materiały

- 10 płytek testowych z pochłaniaczem wilgoci w indywidualnych torebkach foliowych
- 10 probówek z buforem ekstrakcyjnym w torebce foliowej
- 10 nasadek z dozownikiem
- 10 wysterylizowanych wymazówek do pobierania próbek z nosogardzieli
- 1 statyw na probówki
- 1 instrukcja użycia wraz z instrukcją skróconą

Materiały wymagane, ale niedostarczane

- Środki ochrony indywidualnej zgodnie z lokalnymi zaleceniami (tj. fartuch chirurgiczny/laboratoryjny, maska na twarz, przyłbica/okulary i rękawiczki)
- Minutnik
- Pojemnik na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne

Aktywne składniki głównych elementów

- Płytka testowa
  Koniugat złota: przeciwciała monoklonalne przeciwko antygenowi SARS-CoV-2, przeciwko antygenowi grypy typu A i antygenowi grypy typu B ze złotem koloidalnym oraz kurza immunoglobulina IgY ze złotem koloidalnym; linia testowa: mysie przeciwciała monoklonalne przeciwko SARS-CoV-2, mysie przeciwciało monoklonalne przeciwko grypie typu A oraz fragment przeciwciała przeciwko grypie typu B wiążący antygen; linia kontrolna: mysie przeciwciała monoklonalne przeciwko kurzej immunoglobulinie IgY
- Bufor: Tricyna, chlorek sodu, Tween 20, Tergitol 15-S-9, azydek sodu (< 0,1%)

Przechowywanie i trwałość zestawu testowego

1. Zestaw testowy należy przechowywać w temperaturze 2–30°C. Nie zamrażać zestawu ani jego elementów.
2. W przypadku przechowywania w lodówce doprowadzić wszystkie składniki zestawu do temperatury pokojowej (15–30°C) na co najmniej 30 minut przed wykonaniem testu. Nie otwierać torebki w trakcie ogrzewania się elementów zestawu do temperatury pokojowej.
3. Test należy wykonać natychmiast po wyjęciu płytki testowej z torebki foliowej.
4. Nie używać zestawu testowego po upływie terminu ważności.
5. Okres przechowywania zestawu wskazano na opakowaniu zewnętrznym.

6. Nie wolno używać zestawu testowego, jeśli torebka jest uszkodzona lub nie jest szczelnie zamknięta.
7. Próbki pobrane poprzez wymaz bezpośredni należy zbadać natychmiast po pobraniu. Jeśli natychmiastowe wykonanie badania nie jest możliwe, wymazówkę z próbką można przed badaniem przechowywać w probówce z buforem ekstrakcyjnym w temperaturze pokojowej (15–30°C) przez maksymalnie 2 godzin(y).

Ostrzeżenia

1. Wyłącznie do użytku w diagnostyce *in vitro*. Nie używać powtórnie płytki testowej ani elementów zestawu.
2. Przeszkolony fachowy personel medyczny musi ściśle przestrzegać tej instrukcji, aby uzyskać wiarygodne wyniki. Przed wykonaniem testu wszyscy użytkownicy muszą przeczytać niniejszą instrukcję.
3. Podczas obsługiwania próbek nie palić tytoniu ani nie jeść.
4. Podczas obsługiwania próbek należy nosić rękawice ochronne, a po zakończeniu dokładnie umyć ręce.
5. Należy unikać rozpryskiwania próbki i buforu oraz tworzenia z nich aerozolu.
6. W razie rozlania, należy dokładnie zmyć rozlany płyn za pomocą odpowiedniego środka dezynfekcyjnego.
7. Należy odkazić i usunąć wszystkie próbki, zestawy reakcyjne i potencjalnie skażone materiały (tj. wymazówkę, probówkę z buforem ekstrakcyjnym, płytkę testową) do pojemnika na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne tak, jakby były odpadami zakaźnymi, a następnie usunąć zgodnie z obowiązującymi lokalnymi przepisami.
8. Nie łączyć ani nie zamieniać różnych próbek.
9. Nie mieszać odczynników z odczynnikami przeznaczonymi dla innego produktu.
10. Nie przechowywać zestawu testowego w miejscu nasłonecznionym.
11. Aby uniknąć zanieczyszczenia końcówki dostarczonej wymazówki, nie dotykać jej podczas otwierania torebki z wymazówką.
12. Sterylizowanych wymazówek należy używać wyłącznie do pobierania próbki z nosogardzieli.
13. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego, nie używać ponownie wymazówek w celu pobierania próbek.
14. Nie rozcieńczać pobranego wymazu roztworem innym niż dostarczony bufor.
15. Bufor zawiera < 0,1% azydku sodu (środek konserwujący), który może być toksyczny w przypadku spożycia. W przypadku usuwania poprzez wylanie do zlewu, należy spłukać dużą ilością wody.[6]

Procedura wykonania testu (patrz rysunki)

Próbki z wymazów z nosogardzieli

Uwaga: Fachowy personel medyczny powinien przestrzegać wytycznych dotyczących bezpieczeństwa osobistego, co obejmuje stosowanie środków ochrony indywidualnej.

Przygotowanie testu

1. W przypadku przechowywania w lodówce doprowadzić wszystkie składniki zestawu do temperatury pokojowej (15–30°C) na co najmniej 30 minut przed wykonaniem testu. Nie otwierać torebki w trakcie ogrzewania się elementów zestawu do temperatury pokojowej.
2. Wyjąć płytkę testową z torebki foliowej. Umieścić na płaskiej, poziomej i czystej powierzchni.
3. Trzymać probówkę z buforem ekstrakcyjnym w pozycji pionowej i usunąć folię. Umieścić probówkę z buforem ekstrakcyjnym w statywie na probówki.

Pobieranie i ekstrakcja próbek z nosogardzieli

1. Lekko odchylić głowę pacjenta do tyłu o około 45°–70°, aby wyprostować przewód nosowy od przodu nosa.
2. Wprowadzić wymazówkę przez nozdrze równolegle do podniebienia.
   ⚠ **Przestroga:** Do pobrania próbki należy użyć dedykowanej wymazówki do nosogardzieli, dostarczonej w zestawie.
3. Wymazówka powinna osiągnąć głębokość równą odległości od nozdrzy do zewnętrznego otworu ucha.
   ⚠ **Przestroga:** Jeśli podczas wprowadzania wymazówki wyczuwany jest opór, należy wysunąć wymazówkę i ponowić próbę jej wprowadzenia do drugiego nozdrza.
4. Delikatnie pocierać i obracać wymazówkę 5 razy. Pozostawić wymazówkę w nozdrzu na kilka sekund w celu wchłonięcia wydzieliny.
5. Powoli wycofać wymazówkę z ruchem obrotowym i włożyć ją do probówki z buforem ekstrakcyjnym.
6. Zamieszać końcówką wymazówki w płynie buforowym wewnątrz probówki z buforem ekstrakcyjnym, dociskając ją co najmniej pięć razy do ścianki probówki z buforem ekstrakcyjnym, a następnie odcisnąć wymazówkę, ściskając palcami probówkę z buforem ekstrakcyjnym.
7. Zużytą wymazówkę należy zutylizować zgodnie z lokalnymi przepisami i protokołem usuwania odpadów stwarzających zagrożenie biologiczne.
8. Mocno nałożyć nasadkę z dozownikiem na probówkę z buforem ekstrakcyjnym.

Reakcja z płytką testową

1. Trzymając probówkę pionowo, nanieść 4 krople wyekstrahowanej próbki do studzienki na próbkę w płytce.
   ⚠ **Przestroga:** Nie chwytać ani nie przesuwać płytki testowej, aż test nie zakończy się i nie będzie gotowy do odczytu.

2. Uruchomić minutnik. Odczytać wynik po 15 minutach. Nie odczytywać wyniku przed upływem 15 minut ani później niż po 20 minutach.
3. Zamknąć dozownik za pomocą nasadki i usunąć probówkę z buforem ekstrakcyjnym zgodnie z lokalnymi przepisami i protokołem usuwania odpadów stwarzających zagrożenie biologiczne.
4. Zużytą płytkę usunąć zgodnie z lokalnymi przepisami i protokołem usuwania odpadów stwarzających zagrożenie biologiczne.

Ograniczenia testu

1. Zawartość tego zestawu jest przeznaczona do użycia z materiałem pobieranym przez fachowy personel i służy do jakościowego wykrywania antygenu SARS-CoV-2 oraz grypy typu A i B na podstawie wymazu z nosogardzieli. Inne typy próbek mogą prowadzić do uzyskania niepoprawnych wyników, dlatego nie wolno ich używać.
2. Nieprzestrzeganie wskazówek dotyczących procedury testowej i interpretacji wyników testu może niekorzystnie wpłynąć na działanie testu i/lub prowadzić do uzyskania nieważnych wyników.
3. Jeśli próbka została pobrana, wyekstrahowana lub przeniesiona w nieprawidłowy sposób, możliwe jest uzyskanie ujemnego wyniku testu. Ujemny wynik testu nie wyklucza możliwości zakażenia SARS-CoV-2 i grypą typu A i B oraz powinien być potwierdzony posiewem wirusowym lub testem molekularnym.
4. Dodatnie wyniki testu nie wykluczają jednoczesnego zakażenia innymi patogenami.
5. Wyniki testu należy oceniać w połączeniu z innymi danymi klinicznymi dostępnymi lekarzowi.
6. Odczytanie wyników testu po czasie krótszym niż 15 minut lub dłuższym niż 20 minut może prowadzić do uzyskania niepoprawnych wyników.
7. Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) nie jest przeznaczony do wykrywania wadliwego (niezakaźnego) wirusa na późniejszych etapach wydalania wirusa. Taki wirus może zostać wykryty za pomocą testów molekularnych PCR.[7]
8. Pozytywne wyniki mogą wystąpić w przypadku zakażenia SARS-CoV lub albuminy.
9. Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) nie był oceniany w odniesieniu do niżej wymienionych szczepów grypy zgodnie z wytycznymi WHO: A/Darwin/9/2021 (H3N2), B/Austria/1359417/2021.
10. Po uzyskaniu nieprawidłowego wyniku należy odczekać 4 godziny przed powtórzeniem testu.
11. Wydajność kliniczną oceniono na próbkach zamrożonych, a wyniki testu mogą się różnić w przypadku próbek świeżych.

Kontrola jakości

Kontrola w ramach procedury

Na powierzchni płytki testowej znajduje się linia kontrolna („C") i linie testowe („FLU B" [Grypa typu B], „FLU A" [Grypa typu A], „COV 19" [COVID-19]). Przed nałożeniem próbki w okienku wyników nie jest widoczna ani linia testowa, ani linia kontrolna. Linia kontrolna służy do kontrolowania procedury i powinna pojawiać się zawsze wtedy, gdy procedura testowa jest wykonywana prawidłowo i odczynniki testowe linii kontrolnej reagują prawidłowo.

Zewnętrzne materiały kontrolne

Zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną zalecane jest stosowanie zewnętrznych materiałów kontrolnych. Użytkownicy powinni przestrzegać krajowych i lokalnych wytycznych dotyczących częstości testowania zewnętrznych materiałów kontrolnych. Kontrole dodatnie można zamówić pod następującym numerem katalogowym: 62FK11C.

Charakterystyka działania

1. **Wydajność kliniczna testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) z próbką NP**

   Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) jest przeznaczony do wymazów z nosogardzieli pobieranych z jednego nozdrza. Skuteczność testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) została ustalona na podstawie wymazów z nosogardzieli przebadanych w Korei we wrześniu 2021 r. na 100 dodatnich próbkach COVID-19, 50 dodatnich próbkach grypy typu A, 50 dodatnich próbkach grypy typu B i 200 ujemnych próbkach COVID-19 i antygenu grypy typu A i B.

   Próbki pobrano od osób, u których występowały objawy grypy typu A i B i/lub COVID-19. Jedną próbkę pobrano do badań z wykorzystaniem testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP), a drugą do testu PCR. Wymazy pobrano i wyekstrahowano do podłoża do transportu wirusów. Próbki zamrożono po pobraniu i rozmrożono przed badaniem. Działanie testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) oceniono przez porównanie z metodą RT-PCR z oznaczeniem CE.

   Badanie wykazało czułość wynoszącą 88% (95% CI: 80,0–93,6%) i swoistość 100,0% (95% CI: 98,2–100,0%) dla SARS-CoV-2, czułość 92,0% (95% CI: 80,8–97,8%) i swoistość 100,0% (95% CI: 98,2–100,0%) w przypadku grypy typu A oraz czułość 100,0% (95% CI: 92,9–100,0%) i swoistość 100,0% (95% CI: 98,2–100,0%) dla grypy typu B.

Wyniki testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) dla NP COVID-19

SARS-CoV-2		RT-PCR			Ogólna czułość (95% CI)	Ogólna swoistość (95% CI)
		Dodatni	Ujemny	Łącznie		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Dodatni	88	0	88	88,0% (80,0–93,6%)	100,0% (98,2–100,0%)
	Ujemny	12	200	212		
	Łącznie	100	200	300		

- Zgodność wyników dodatnich testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) jest wyższa w przypadku próbek o wartości Ct ≤30 z czułością 94,4% (95% CI: 87,5–98,3%) i niższa w przypadku próbek o wartościach Ct >30 z czułością 30,0% (95%CI: 6,7–65,3%) dla SARS-CoV-2. Zgodnie z treścią pozycji 7–9 piśmiennictwa pacjenci z wartością Ct >30 już nie zarażają.[7, 8, 9]

POLSKI

Wyniki testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) dla NP grypy typu A

Grypa typu A		RT-PCR			Ogólna czułość (95% CI)	Ogólna swoistość (95% CI)
		Dodatni	Ujemny	Łącznie		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Dodatni	46	0	46	92,0% (80,8–97,8%)	100,0% (98,2–100,0%)
	Ujemny	4	200	204		
	Łącznie	50	200	250		

Wyniki testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) dla NP grypy typu B

Grypa typu B		RT-PCR			Ogólna czułość (95% CI)	Ogólna swoistość (95% CI)
		Dodatni	Ujemny	Łącznie		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Dodatni	50	0	50	100,0% (92,9–100,0%)	100,0% (98,2–100,0%)
	Ujemny	0	200	200		
	Łącznie	50	200	250		

2. Granica wykrywalności

Granica wykrywalności testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) została określona dla następujących szczepów wirusa:

- 1,54 X 10^2 $TCID_{50}$/ml SARS-CoV-2, który został wyizolowany od pacjenta z Korei, u którego potwierdzono zakażenie COVID-19.
- 4,07 X 10^2 $TCID_{50}$/ml szczepu grypy typu A H1N1/California/07/09.
- 1,14 X 10^2 $TCID_{50}$/ml szczepu grypy typu A H3N2/Perth/16/09.
- 2,46 X 10^4 IU/ml szczepu grypy typu B/Wisconsin/1/2010.

Wymienione szczepy wirusa grypy typu A otrzymano od ZeptoMetrix z informacją o mianie. Charakterystyka wydajności w przypadku wirusa grypy typu A może być różna w zależności od podtypów, regionu i roku wystąpienia, ponieważ wirusy grypy typu A uległy niewielkim zmianom aminokwasowym w docelowym regionie epitopu.

3. Efekt haka

Nie ma efektu haka w przypadku:

- 1,0 X $10^{5,8}$ $TCID_{50}$/ml z płynem posiewu SARS-CoV-2, który został wyizolowany od pacjenta z Korei, u którego potwierdzono zakażenie COVID-19.
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml ze szczepem grypy typu A H1N1/California/07/09.
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml ze szczepem grypy typu A H3N2/Perth/16/09.
- 1,40 X 10^7 IU/ml ze szczepem grypy typu B/Wisconsin/1/2010.
- 5,0 X $10^{7,25}$ $TCID_{50}$/ml ze szczepem grypy typu A H1N1/New Jersey/8/76.
- 3,40 X 10^9 $TCID_{50}$/ml ze szczepem grypy typu A/Denver/1/57.
- 5,0 X $10^{6,5}$ $TCID_{50}$/ml ze szczepem grypy typu A/Hongkong/8/68.

4. Reaktywność krzyżowa

Reaktywność krzyżowa testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) została oceniona przez zbadanie 76 wirusów i 37 innych mikroorganizmów (5 powtórzeń dla każdego). Ludzkie szczepy grypy typu A zgodnie z oczekiwaniami reagowały z linią testową grypy typu A i nie reagowały krzyżowo z liniami testowymi wirusa grypy typu B lub COVID-19. Ludzkie szczepy grypy typu B zgodnie z oczekiwaniami reagowały z linią testową grypy typu B i nie reagowały krzyżowo z liniami testowymi wirusa grypy typu A lub COVID-19. Szczepy grypy inne niż ludzkie nie reagowały z liniami testowymi grypy typu A, B lub COVID-19. Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) wykazuje reaktywność krzyżową z nukleoproteiną ludzkiego koronawirusa SARS w stężeniu ≥200 pg/ml, ponieważ SARS-CoV wykazuje dużą homologię z SARS-CoV-2 (79,6%).

Testowane wirusy		
Nukleoproteina SARS-CoV	Grypa typu A H1N1 (California/07/09)	Grypa typu A H1N1 (A/Beijing/262/1995)
Grypa typu A H1N1 (A/New Jersey/8/76)	Grypa typu A H1N1 (A/Denver/1/57)	Grypa typu H1N1 (A/Puerto Rico/8/34)
Grypa typu A H1N1 (A/FM/1/47)	Grypa typu H3N2 (A/Hongkong/8/68)	Grypa typu A H3N2 (A/Victoria/3/75)
Grypa typu A H3N2 (A/Port Chalmers/1/73)	Grypa typu A H3N2 (Perth/16/09)	Grypa typu A H3N2 (Wisconsin/67/05)
Grypa typu A H5N1 (A/China/2006)	Grypa typu A H5N2 (A/kura/ Iowa/ 04-20/2015)*	Grypa typu A H7N1 (A/indyk/Italy/4602/99)*
Grypa typu A H7N2 (A/kamusznik/New Jersey/563/2006)*	Grypa typu A H7N7 (A/kura/Netherlands/ 1/03)*	Grypa typu B (B/Florida/78/2015, linia Victoria)
Grypa typu B (B/Florida/4/2006, linia Yamagata)	Grypa typu B (B/Maryland/1/59, linia Victoria)	Grypa typu B (B/GL/1739/54)
Grypa typu B (B/Taiwan/2/62)	Grypa typu B (B/Malaysia/2506/04, linia Victoria)	Grypa typu B (B/Wisconsin/1/2010, linia Yamagata)
Grypa typu A H1N1 (A/Wisconsin/588/2019)/ (A/Victoria/2570/2019)	Grypa typu A H3N2 (A/Cambodia/ e0826360/2020)	Grypa typu B (B/Phuket/3073/2013, linia Yamagata)
Grypa typu B (B/Washington/02/2019, linia Victoria)		

* inny niż ludzki szczep grypy

Nie było reakcji krzyżowej z niżej wymienionymi wirusami i drobnoustrojami.

Testowane wirusy		
HCoV-HKU1	HCoV-NL63	HCoV-OC43
MERS-CoV	HCoV-229E	Ludzki adenowirus 1
Ludzki adenowirus 2	Ludzki adenowirus 3	Ludzki adenowirus 4
Ludzki adenowirus 5	Adenowirus 6	Adenowirus 7
Adenowirus 10	Ludzki adenowirus 18	Adenowirus 21
Norowirus	Wirus Epsteina-Barr	Ludzki wirus opryszczki (HSV) 1
Ludzki wirus opryszczki (HSV) 2	Ludzki cytomegalowirus	Wirus świnki
Wirus paragrypy typu 4A	Wirus paragrypy typu 4B	Paragrypa typu 1
Paragrypa typu 2	Paragrypa typu 3	Ludzki syncytialny wirus oddechowy typu A
Ludzki syncytialny wirus oddechowy typu B	Wirus odry	hMPV 16 typu A1
Ludzki rinowirus typu 1B	Rinowirus typu A2	Ludzki rinowirus typu 14
Rinowirus typu A16	Rotawirus typu A	Wirus Sendai
Wirus różyczki	Wirus Coxsackie typu A9	Wirus Coxsackie typu B4
Wirus Coxsackie typu B5	Ludzki wirus Echo 2	Ludzki wirus Echo 6
Wirus Echo 7	Wirus Echo 11	Ludzki enterowirus 71
Wirus polio 1	Enterowirus typu D68	

Przebadane mikroorganizmy		
Bordetella pertussis	*Mycobacterium avium*	*Staphylococcus epidermidis*
Candida albicans	*Mycobacterium tuberculosis*	*Staphylococcus haemolyticus*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus faecalis	*Neisseria lactamica*	*Streptococcus pneumoniae*
Escherichia coli	*Neisseria gonorrhoeae*	*Streptococcus pyogenes*
Fusobacterium necrophorum	*Neisseria meningitidis*	*Streptococcus salivarius*
Haemophilus influenzae	*Neisseria sp. (Neisseria lactamica)*	*Streptococcus anginosus*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus vulgaris*	*Pneumocytis jirovecci (PJP)*
Legionella pneumophila	*Pseudomonas aeruginosa*	*Zebrane ludzkie popłuczyny nosowe*
Moraxella catarrhalis	*Corynebacterium diphtheriae*	*Enterococcus faecium*
Lactobacillus plantarum	*Neisseria sicca*	*Streptococcus agalactiae*
Streptococcus bovis	*Streptococcus oralis*	*Arcanobacterium Haemolyticum*
Staphylococcus aureus		

5. Substancje zakłócające

Niżej wymienione 53 potencjalnie zakłócające substancje (5 powtórzeń dla każdej) nie mają wpływu na wynik testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) z wyjątkiem albuminy w stężeniu >55 g/l.

Typ	Badane substancje			
Endogenne	Mucyna	Krew ludzka	Bilirubina	Przeciwciało przeciwjądrowe (ANA)
	Lipid we krwi	Hemoglobina	Czynnik reumatoidalny	Ludzkie przeciwciało przeciwmysie
	Albumina	Mometazon	Lopinawir	Kwas acetylosalicylowy
Egzogenne	Fenylefryna	Flutykazon	Rytonawir	Ibuprofen
	Oksymetazolina	Chlorfeniramina	Arbidol	Siarka
	Chlorek sodu	Difenhydramina	Lewofloksacyna	Trukwa pokrywkowata
	Aerozol do nosa (NasalCrom)	Dichlorowodorek histaminy	Azytromycyna	Benzokaina
	Aerozol do nosa (Equate)	Histamina	Meropenem	Mentol
	Beklometazon	Galphimia glauca	Tobramycyna	Acetaminofen
	Deksametazon	Histaminum hydrochloricum	Mupirocyna	Płyn do płukania ust (Crest)
	Flunizolid	Zanamiwir	Albuterol	Płyn do płukania ust (Listerine)
	Acetonid triamcynolonu	Rybawiryna (Rebetol)	Efedryna	Płyn do płukania ust (Therabreath)
	Budezonid	Tamiflu (oseltamiwir)	Eter glicerylowy gwajakolu	Heparyna
	Fenylopropanoloamina			

6. Powtarzalność i odtwarzalność

Powtarzalność i odtwarzalność testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) ustalono przy użyciu 3 dodatnich próbek (umiarkowanych, słabych, o stężeniu bliskim granicy wykrywalności) na każdy szczep (SARS-CoV-2, grypa typu A H1N1, grypa typu A H3N2 i grypa typu B) i próbki ujemnej. Nie zaobserwowano różnic w obrębie serii, między seriami, między partiami, między ośrodkami i między dniami.

PRZYGOTOWANIE

1 W przypadku przechowywania w lodówce doprowadzić wszystkie składniki zestawu do temperatury pokojowej (15–30°C) na co najmniej 30 minut przed wykonaniem testu. Nie otwierać torebki w trakcie ogrzewania się elementów zestawu do temperatury pokojowej.

Uwaga: Fachowy personel medyczny powinien przestrzegać wytycznych dotyczących bezpieczeństwa osobistego, co obejmuje stosowanie środków ochrony indywidualnej.

---

2 **Otworzyć opakowanie i sprawdzić, czy znajdują się w nim:**

1. Płytka testowa z pochłaniaczem wilgoci w indywidualnej torebce foliowej
2. Probówka z buforem ekstrakcyjnym w torebce foliowej
3. Nasadka z dozownikiem
4. Wysterylizowana wymazówka do nosogardzieli do pobierania próbek
5. Statyw na probówki
6. Instrukcja użycia wraz z instrukcją skróconą

---

3 Przed użyciem testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) dokładnie przeczytać niniejszą instrukcję.

---

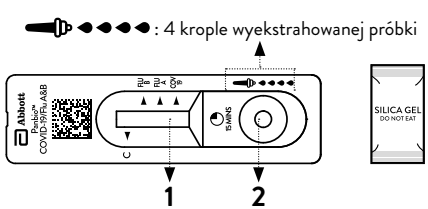
4 Sprawdzić termin ważności na pudełku z zestawem. Jeśli upłynął termin ważności, wybrać inny zestaw do użytku.

---

5 **Otworzyć foliową torebkę płytki testowej, na której znajdują się:**

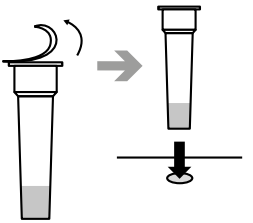
1. Okienko wyników
2. Studzienka na próbkę

Następnie oznaczyć płytkę identyfikatorem pacjenta.

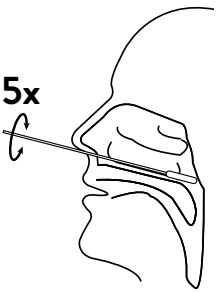


PROCEDURA WYKONANIA TESTU

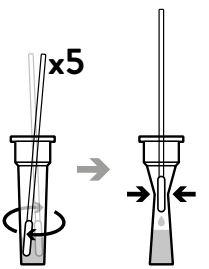
1 Trzymać probówkę z buforem ekstrakcyjnym w pozycji pionowej i usunąć folię. Umieścić probówkę z buforem ekstrakcyjnym w statywie na probówki.



2 Odchylić głowę pacjenta do tyłu (około 45°–70°). Wprowadzić wymazówkę przez nozdrze. Delikatnie pocierać i obracać wymazówkę 5 razy. Pozostawić wymazówkę w nozdrzu na kilka sekund. Powoli wysunąć wymazówkę.



3 Włożyć wymazówkę z próbką do probówki z buforem ekstrakcyjnym. Zamieszać końcówką wymazówki w płynie buforowym wewnątrz probówki z buforem ekstrakcyjnym, dociskając ją co najmniej pięć razy do ścianki probówki z buforem ekstrakcyjnym, a następnie odcisnąć wymazówkę, ściskając palcami probówkę z buforem ekstrakcyjnym.

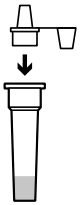


4 Zużytą wymazówkę należy zutylizować zgodnie z lokalnymi przepisami i protokołem usuwania odpadów stwarzających zagrożenie biologiczne.



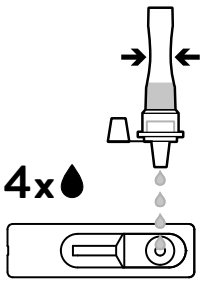
PROCEDURA WYKONANIA TESTU

5 Mocno nałożyć nasadkę z dozownikiem na probówkę z buforem ekstrakcyjnym.



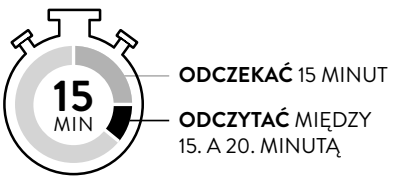
6 Trzymając probówkę pionowo, nanieść 4 krople wyekstrahowanej próbki do studzienki na próbkę w płytce.

⚠ **Przestroga:** Nie chwytać ani nie przesuwać płytki testowej, aż test nie zakończy się i nie będzie gotowy do odczytu.

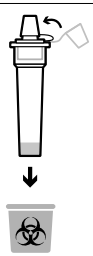


7 Uruchomić minutnik. Odczytać wynik po 15 minutach. Nie odczytywać wyniku później niż po 20 minutach.

Uwaga: Linia kontrolna („C") może pojawić się w okienku wyników w ciągu kilku minut, ale linia testowa („FLU B" [Grypa typu B], „FLU A" [Grypa typu A], „COV 19" [COVID-19]) może pojawić się dopiero po 15 minutach.



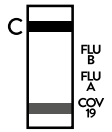
8 Zamknąć dozownik za pomocą nasadki i usunąć probówkę z buforem ekstrakcyjnym zgodnie z lokalnymi przepisami i protokołem usuwania odpadów stwarzających zagrożenie biologiczne.



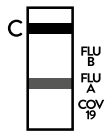
INTERPRETACJA TESTU

DODATNI

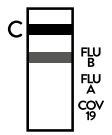
- **Dodatni wynik w kierunku COVID-19:** Obecność dwóch barwnych linii (linia testowa „COV 19” [COVID-19] i linia kontrolna „C”) w okienku wyników.



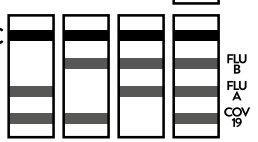
- **Dodatni wynik w kierunku grypy typu A:** Obecność dwóch barwnych linii (linia testowa „FLU A” [Grypa typu A] i linia kontrolna „C”) w okienku wyników.



- **Dodatni wynik w kierunku grypy typu B:** Obecność dwóch barwnych linii (linia testowa „FLU B” [Grypa typu B] i linia kontrolna „C”) w okienku wyników.



- **Kilka wyników dodatnich jednocześnie:** Obecność trzech lub czterech barwnych linii (linia testowa „FLU B” [Grypa typu B], „FLU A” [Grypa typu A], „COV 19” [COVID-19] oraz linia kontrolna „C”) w okienku wyników.



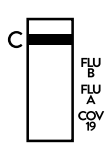
⚠ **Przestroga:** Obecność jakiejkolwiek linii testowej („FLU B” [Grypa typu B], „FLU A” [Grypa typu A], „COV 19” [COVID-19]), nawet bardzo niewyraźnej, oznacza wynik dodatni.

Uwaga: W przypadku uzyskania kilku wyników dodatnich jednocześnie, użytkownik powinien zdawać sobie sprawę z tej wyjątkowej sytuacji, ponieważ obie choroby mogą wykazywać podobne objawy, ale leczy się je w różny sposób.

Należy mieć na uwadze, że wyniki uzyskane w teście mają charakter wstępny.

UJEMNY

Obecność samej linii kontrolnej („C”) przy braku linii testowej („FLU B” [Grypa typu B], „FLU A” [Grypa typu A], „COV 19” [COVID-19]) w okienku wyników wskazuje na wynik ujemny.

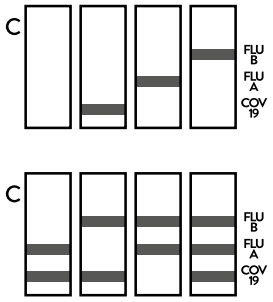


INTERPRETACJA TESTU

NIEWAŻNY

Jeśli po wykonaniu testu w okienku wyników nie jest widoczna linia kontrolna („C"), wynik jest uważany za nieważny (nawet jeśli linia testowa jest widoczna).

Prawdopodobnie procedurę wykonano niezgodnie z instrukcją. Zaleca się odczekanie 4 godzin, ponowne przeczytanie instrukcji obsługi, pobranie nowej próbki i ponowne wykonanie testu przy użyciu nowej płytki testowej.



9 Zużytą płytkę usunąć zgodnie z lokalnymi przepisami i protokołem usuwania odpadów stwarzających zagrożenie biologiczne.



O testu

Úvod

Koronavirové onemocnění (COVID-19) je infekční onemocnění způsobené nově objeveným koronavirem, koronavirem těžkého akutního respiračního syndromu 2 (SARS-CoV-2).[1] SARS-CoV-2 je β-koronavirus, což je obalený nesegmentovaný RNA vir s pozitivní polaritou.[2] Šíří se přenosem z člověka na člověka kapénkami nebo přímým kontaktem. Na základě současného epidemiologického výzkumu je inkubační doba 1 až 14 dní, většinou 3 až 7 dní. Mezi pacienty s pneumonií způsobenou virem SARS-CoV-2 byla nejčastějším příznakem horečka následovaná kašlem.[3] Influenza, běžně nazývána chřipka, je infekční onemocnění způsobené viry chřipky.[4] Příznaky se pohybují od mírných až po závažné a často zahrnují horečku, rýmu, bolest v krku, bolest svalů, bolest hlavy, kašel a únavu. Tyto příznaky obvykle začínají 1 až 4 dny po expozici viru a trvají asi 2 až 8 dní.[5]

Princip testu

Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal) obsahuje membránový proužek, který je na testovací linii potažen imobilizovanými protilátkami proti viru SARS-CoV-2, viru chřipky A, viru chřipky B na kontrolní linii myší monoklonální protilátkou proti kuřecímu IgY. Čtyři typy zlatých konjugátů (monoklonální protilátky specifické pro zlaté konjugáty SARS-CoV-2, chřipky A a chřipky B a zlatý konjugát s kuřecí protilátkou IgY) se chromatograficky pohybují vzhůru po membráně a reagují s protilátkami proti virům SARS-CoV-2, proti chřipce A a chřipce B a s předem nanesenou myší monoklonální protilátkou proti kuřecímu IgY. Při pozitivním výsledku vytvoří každý patogen SARS-CoV-2, chřipky A a chřipky B v okénku s výsledky testovací linii. Před aplikací vzorku pacienta není v okénku s výsledky vidět ani testovací ani kontrolní linie. Pro označení platnosti výsledku testu je nutná viditelná kontrolní čára.

Určené použití

Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) je *in vitro* diagnostický rychlý test pro kvalitativní detekci antigenu (Ag) viru SARS-CoV-2 a virů chřipky A a B ve vzorcích lidských výtěrů z nosohltanu u jedinců, kteří splňují klinická nebo epidemiologická kritéria onemocnění COVID-19 a chřipky.

Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) je určen pro odborné použití a je určen jako pomůcka při diagnostice infekce SARS-CoV-2 a chřipky. Výrobek může být používán v laboratorním i nelaboratorním prostředí.

Test poskytuje předběžné výsledky testu. Negativní výsledky nevylučují infekci SARS-CoV-2 a chřipky A/B a nelze je použít jako jediný podklad pro rozhodnutí o léčbě nebo jiném postupu. Negativní výsledky se musí kombinovat s klinickým pozorováním, anamnézou pacienta a epidemiologickými informacemi.

Dodané materiály

- 10 testovacích zařízení s vysoušedlem v jednotlivých fóliových sáčcích
- 10 zkumavek s extrakčním pufrem ve fóliovém sáčku

- 10 uzávěrů trysek
- 10 sterilizovaných pěnových tampónů pro odběr vzorků z nosohltanu
- 1 stojan na zkumavky
- 1 pokyny pro použití se stručnou referenční příručkou

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

- Osobní ochranné prostředky podle místních doporučení (tj. plášť/ laboratorní plášť, rouška, obličejový štít / brýle a rukavice)
- Časovač
- Nádoba pro biologicky nebezpečný materiál

Aktivní složky hlavních součástí

- Testovací kazeta
  Zlatý konjugát: monoklonální protilátky proti SARS-CoV-2 (Ag) a influenze A (Ag) / B (Ag) s koloidním zlatem a kuřecí IgY s koloidním zlatem. Testovací linie: myší monoklonální protilátka anti-SARS-CoV-2, myší monoklonální protilátka anti-influenza A a fragment protilátek vážící antigen anti-influenza B. Kontrolní linie: myší monoklonální protilátka anti-kuřecí IgY
- Pufr: Tricin, chlorid sodný, Tween 20, Tergitol 15-S-9, azid sodný (<0,1 %)

Skladování a stabilita testovací sady

1. Testovací sada by měla být skladována při teplotě mezi 2–30 °C. Chraňte sadu nebo její součásti před mrazem.
2. Skladují-li se všechny součásti sady v chladničce, musí se před provedením zkoušky zahřát na pokojovou teplotu (15–30 °C) po dobu nejméně 30 minut. Neotvírejte sáček, dokud komponenty nedosáhnou pokojové teploty.
3. Test proveďte ihned po vyjmutí testovací kazety z ochranného obalu.
4. Nepoužívejte testovací sadu po uplynutí doby použitelnosti.
5. Doba použitelnosti sady je uvedena na vnějším obalu.
6. Testovací sadu nepoužívejte, pokud je poškozen obal nebo těsnění.
7. Přímo odebraný vzorek výtěru se musí testovat ihned po odběru. Není-li možné provést okamžité testování, lze tampón se vzorkem uchovávat ve zkumavce s extrakčním pufrem při pokojové teplotě (15–30 °C) po dobu až 2 hodin před testováním.

Varování

1. Pouze k diagnostickému použití *in vitro*. Testovací zařízení a součásti sady nepoužívejte opakovaně.
2. Pro dosažení přesných výsledků musí být tyto pokyny striktně dodržovány vyškoleným zdravotnickým pracovníkem. Před provedením testu si všichni uživatelé musí přečíst pokyny.
3. Při manipulaci se vzorky nejezte a nekuřte.
4. Při manipulaci se vzorky používejte ochranné rukavice a poté si důkladně umyjte ruce.

5. Zabraňte rozstřikování nebo tvorbě aerosolu ve vzorku a pufru.
6. Rozlitý materiál důkladně odstraňte vhodným dezinfekčním prostředkem.
7. Dekontaminujte a zlikvidujte všechny vzorky, reakční sady a potenciálně kontaminované materiály (tj. tampóny, zkumavky s extrakčním pufrem, testovací zařízení) v nádobě pro biologicky nebezpečný materiál, jako by to byl infekční odpad, a zlikvidujte je v souladu s platnými místními předpisy.
8. Nemíchejte ani nezaměňujte různé vzorky.
9. Nemíchejte reagencie pro jiné produkty.
10. Neskladujte testovací sadu na přímém slunečním světle.
11. Abyste zabránili kontaminaci, nedotýkejte se hlavy dodaného tampónu při otevírání sáčku s tampóny.
12. Sterilizovaný tampón by měl být použit pouze pro odběr vzorků z nosohltanu.
13. Abyste zabránili křížové kontaminaci, nepoužívejte tampóny k odběru vzorků opakovaně.
14. Tampón se vzorkem neřeďte žádným jiným roztokem kromě dodaného pufru.
15. Dodaný pufr obsahuje azid sodný <0,1 % sloužící jako konzervační látka, která může být při požití toxická. Při likvidaci v dřezu spláchněte velkým objemem vody.[6]

Postup testování (viz obrázky)

Vzorky získané výtěrem z nosohltanu

Poznámka: Zdravotničtí pracovníci by měli dodržovat pokyny pro osobní bezpečnost, včetně používání osobních ochranných prostředků.

Příprava testu

1. Skladují-li se všechny součásti sady v chladničce, musí se před provedením zkoušky zahřát na pokojovou teplotu (15–30 °C) po dobu nejméně 30 minut. Neotvírejte sáček, dokud komponenty nedosáhnou pokojové teploty.
2. Vyjměte testovací zařízení z fóliového sáčku. Umístěte na rovnou, vodorovnou a čistou plochu.
3. Zkumavku s extrakčním pufrem udržujte ve svislé poloze a odstraňte fólii. Umístěte zkumavku s extrakčním pufrem do stojanu na zkumavky.

Odběr a extrakce vzorků z nosohltanu

1. Nakloňte hlavu pacienta mírně dozadu v úhlu přibližně o 45°–70°, aby se narovnal nosní průchod.
2. Zaveďte tampón nosní dírkou rovnoběžně s patrem.
   ⚠ **Upozornění:** Pro odběr vzorků použijte speciální tampón pro výtěr z nosohltanu, který je součástí soupravy.
3. Tampón by měl dosáhnout hloubky rovnající se vzdálenosti od nosních dírek k vnějšímu ušnímu otvoru.
   ⚠ **Upozornění:** Pokud se při zavádění tampónu objeví odpor, vyjměte jej a zkuste jej zavést do opačné nosní dírky.
4. Jemně třete a pětkrát otáčejte tampónem. Nechte tampón několik sekund na místě, aby absorboval sekrety.

5. Pomalu odstraňte tampón při jeho otáčení a vložte jej do zkumavky s extrakčním pufrem.
6. Otáčejte špičkou tampónu v pufrové tekutině uvnitř zkumavky s extrakčním pufrem, nejméně pětkrát zatlačte na stěnu zkumavky a poté vymáčkněte tampón stlačením zkumavky s extrakčním pufrem mezi prsty.
7. Použité tampóny zlikvidujte v souladu s místními předpisy a protokolem o likvidaci biologického odpadu.
8. Pevně zatlačte uzávěr trysky na zkumavku s extrakčním pufrem.

Reakce s testovacím zařízením

1. Nadávkujte 4 kapky extrahovaných vzorků svisle do misky na vzorek na zařízení.
   ⚠ **Upozornění:** Nemanipulujte s testovacím zařízením ani s ním nepohybujte, dokud není test dokončen a připraven k odečtení.
2. Spusťte časovač. Odečtěte výsledek za 15 minut. Výsledek nečtěte dříve než za 15 minut nebo po uplynutí 20 minut.
3. Uzavřete trysku připojeným víčkem a zlikvidujte zkumavku s extrakčním pufrem v souladu s místními předpisy a protokolem o likvidaci biologického odpadu.
4. Použité zařízení zlikvidujte v souladu s místními předpisy a protokolem o likvidaci biologického odpadu.

Omezení testu

1. Obsah této sady je určen pro odběr vzorků odborníky a ke kvalitativní detekci antigenu SARS-CoV-2 a influenzy A/B ze vzorků z výtěru nosohltanu. Jiné typy vzorků mohou vést k nesprávným výsledkům a nesmí se používat.
2. Nedodržení pokynů pro postup testu a interpretaci výsledků testu může nepříznivě ovlivnit výkon testu nebo může dojít k neplatným výsledkům.
3. Pokud byl vzorek nesprávně odebrán, extrahován nebo přepraven, může dojít k negativnímu výsledku testu. Negativní výsledek testu nevylučuje možnost infekce SARS-CoV-2 a chřipky A/B a měl by být potvrzen kultivací viru nebo molekulární analýzou.
4. Pozitivní výsledky testů nevylučují koinfekci jinými patogeny.
5. Výsledky testů musí být vyhodnoceny ve spojení s dalšími klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
6. Odečtení výsledků testu dříve než za 15 minut nebo po uplynutí 20 minut může mít za následek nesprávné výsledky.
7. Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) není určen k detekci defektního (neinfekčního) viru v pozdějších stádiích vylučování viru, které může být odhaleno molekulárními PCR testy.[7]
8. Pozitivní výsledky se mohou objevit v případech infekce virem SARS-CoV nebo albuminem.

9. Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) nebyl hodnocen pro následující kmeny chřipky, jak uvádí směrnice WHO: A/Darwin/9/2021 (H3N2), B/Austria/1359417/2021.
10. Po neplatném výsledku počkejte 4 hodin, než test zopakujete.
11. Klinická účinnost byla hodnocena pomocí zmrazených vzorků a účinnost testu se může u čerstvých vzorků lišit.

Kontrola kvality

Kontroly postupu

Testovací zařízení má na povrchu kontrolní linii („C“) a testovací linii („FLU B“, „FLU A“, „COV 19“). Před aplikací vzorku není v okénku s výsledky vidět ani testovací ani kontrolní linie. Kontrolní linie se používá k ověření postupu a měla by se vždy objevit, pokud je testovací postup prováděn správně a testovací reagencie kontrolní linie fungují.

Externí kontroly

Správná laboratorní praxe doporučuje používat externí kontrolní materiály. Uživatelé by měli dodržovat federální, státní a místní pokyny týkající se četnosti testů externích kontrol. Konkrétní pozitivní kontroly lze objednat podle následujícího katalogového čísla: 62FK11C.

Charakteristiky účinnosti

1. **Klinická účinnost se vzorkem z nosohltanu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP)**

   Test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) je určen pro odběr vzorků z nosohltanu z jedné nosní dírky. Účinnost Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) byla stanovena pomocí tampónů pro výtěr z nosohltanu testovaných v Koreji v září 2021 se 100 pozitivními výsledky na COVID-19, 50 pozitivními výsledky na chřipku A, 50 pozitivními výsledky na chřipku B a 200 negativními vzorky na COVID-19 a antigen chřipky A&B.

   Vzorky byly odebrány od jedinců, u kterých se projevily příznaky chřipky A&B nebo COVID-19. Jeden vzorek byl odebrán pro testování na Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) a druhý pro PCR. Stěry byly odebrány a extrahovány do virových transportních médií. Vzorky byly po odběru zmrazeny a před testováním rozmrazeny. Účinnost Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) byla hodnocena srovnáním s metodou RT-PCR s označením CE.

   Studie prokázala citlivost 88 % (95 % CI: 80–93,6 %) a specificitu 100 % (95 % CI: 98,2–100 %) pro SARS-CoV-2, citlivost 92 % (95 % CI: 80,8–97,8 %) a specificitu 100 % (95 % CI: 98,2–100 %) pro chřipku A a citlivost 100 % (95 % CI: 92,9–100 %) a specificitu 100 % (95 % CI: 98,2-100%) pro chřipku B.

Výsledky testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) vzorků z nosohltanu na COVID-19

SARS-CoV-2		RT-PCR			Celková citlivost (95 % CI)	Celková specificita (95 % CI)
		Pozitivní	Negativní	Celkem		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitivní	88	0	88	88 % (80–93,6 %)	100 % (98,2–100 %)
	Negativní	12	200	212		
	Celkem	100	200	300		

- Pozitivní shoda Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) je vyšší u vzorků s hodnotami Ct ≤30 s citlivostí 94,4 % (95 %CI: 87,5–98,3 %) a nižší u vzorků s hodnotami Ct >30 s citlivostí 30,0 % (95 %CI: 6,7–65,3 %) pro SARS-CoV-2. Jak je uvedeno v odkazech 7–9, pacienti s hodnotou Ct >30 již nejsou nakažliví.[7, 8, 9]

Výsledky testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) vzorků z nosohltanu na chřipku typu A

Chřipka typu A		RT-PCR			Celková citlivost (95 % CI)	Celková specificita (95 % CI)
		Pozitivní	Negativní	Celkem		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitivní	46	0	46	92 % (80,8–97,8 %)	100 % (98,2–100 %)
	Negativní	4	200	204		
	Celkem	50	200	250		

Výsledky testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) vzorků z nosohltanu na chřipku typu B

Chřipka typu B		RT-PCR			Celková citlivost (95 % CI)	Celková specificita (95 % CI)
		Pozitivní	Negativní	Celkem		
Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP)	Pozitivní	50	0	50	100 % (92,9–100 %)	100 % (98,2–100 %)
	Negativní	0	200	200		
	Celkem	50	200	250		

2. Detekční limit

Detekční limit testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) byl stanoven na následujících virových kmenech:

- 1,54 X 10^2 $TCID_{50}$/ml viru SARSCoV-2, který byl izolován z pacienta s potvrzeným onemocněním COVID-19 v Koreji.
- 4,07 X 10^2 $TCID_{50}$/ml chřipkového kmene A H1N1/California/07/09.
- 1,14 X 10^2 $TCID_{50}$/ml chřipky A H3N2/Perth/16/09.
- 2,46 X 10^4 IU/ml chřipky B/Wisconsin/1/2010.

Tyto virové kmeny chřipky A byly získány od společnosti ZeptoMetrix s údaji o množství (titry). Charakteristika účinnosti pro vir chřipky A se může lišit v závislosti na dílčích typech, regionu a roce výskytu, protože u virů chřipky A došlo v cílové oblasti epitopu k menším změnám aminokyselin.

3. „Hook“ efekt

Neexistuje žádný „hook“ efekt při:

- 1,0 X $10^{5,8}$ $TCID_{50}$/ml s kultivačním roztokem SARSCoV-2, který byl izolován z pacienta s potvrzeným onemocněním COVID-19 v Koreji.
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml s chřipkou typu A H1N1/California/07/09.
- 1,17 X 10^5 $TCID_{50}$/ml s chřipkou A H3N2/Perth/16/09.
- 1,40 X 10^7 IU/ml s chřipkou B/Wisconsin/1/2010.
- 5,0 X $10^{7,25}$ $TCID_{50}$/ml s chřipkou typu A H1N1/New Jersey/8/76.
- 3,40 X 10^9 $TCID_{50}$/ml s chřipkou A/Denver/1/57.
- 5,0 X $10^{6,5}$ $TCID_{50}$/ml s chřipkou A/Hongkong/8/68.

4. Zkřížená reaktivita

Zkřížená reaktivita testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) byla hodnocena testováním (5 opakování u každého z nich) 76 virů a 37 dalších mikroorganismů. Kmeny lidské chřipky A podle očekávání reagovaly s testovací linií pro chřipku A a nereagovaly zkříženě s testovací linií pro chřipku B nebo COVID-19. Kmeny lidské chřipky B podle očekávání reagovaly s testovací linií pro chřipku B a nereagovaly zkříženě s testovací linií pro chřipku A nebo COVID-19. Kmeny subhumánní chřipky nereagovaly na testovací linie pro chřipku A, B ani COVID-19. Test Panbio™ COVID-19/ Flu A&B Rapid Panel (NP) má zkříženou reaktivitu s lidským nukleovým proteinem koronaviru SARS v koncentraci ≥200 pg/ml, protože SARS-CoV má vysokou homologii k SARS-CoV-2 (79,6 %).

Testované viry		
Nukleový protein SARS-CoV	Chřipka A H1N1 (California/07/09)	Chřipka A H1N1 (A/Beijing/262/1995)
Chřipka A H1N1 (A/New Jersey/8/76)	Chřipka A H1N1 (A/Denver/1/57)	Chřipka H1N1 (A/Puerto Rico/8/34)
Chřipka A H1N1 (A/ FM/1/47)	Chřipka H3N2 (A/Hongkong/8/68)	Chřipka A H3N2 (A/Victoria/3/75)
Chřipka A H3N2 (A/Port Chalmers/1/73)	Chřipka A H3N2 (Perth/16/09)	Chřipka A H3N2 (Wisconsin/67/05)
Chřipka A H5N1 (A/China/2006)	Chřipka A H5N2 (A/chicken/Iowa/ 04-20/2015)*	Chřipka A H7N1 (A/turkey/Italy/4602/99)*
Chřipka A H7N2 (A/ruddy turnstone/ New Jersey/563/2006)*	Chřipka A H7N7 (A/chicken/ Netherlands/1/03)*	Chřipka B (B/Florida/78/2015, Victoria Lineage)
Chřipka B (B/Florida/4/2006, Yamagata Lineage)	Chřipka B (B/Maryland/1/59, Victoria Lineage)	Chřipka B (B/GL/1739/54)
Chřipka B (B/Taiwan/2/62)	Chřipka B (B/Malaysia/2506/04, Victoria Lineage)	Chřipka B (B/Wisconsin/1/2010, Yamagata Lineage)
Chřipka A H1N1 (A/Wisconsin/588/2019)/ (A/Victoria/2570/2019)	Chřipka A H3N2 (A/Kambodža/ e0826360/2020)	Chřipka B (B/Phuket/3073/2013, Yamagata Lineage)
Chřipka B (B/Washington/02/2019, Victoria Lineage)		

* kmen subhumánní chřipky

Nebyla zjištěna zkřížená reakce s níže uvedenými viry a mikroorganismy.

Testované viry		
HCoV-HKU1	HCoV-NL63	HCoV-OC43
MERS-CoV	HCoV-229E	Lidský adenovirus 1
Lidský adenovirus 2	Lidský adenovirus 3	Lidský adenovirus 4
Lidský adenovirus 5	Adenovirus 6	Adenovirus 7
Adenovirus 10	Lidský adenovirus 18	Adenovirus 21
Norovirus	Virus Epstein-Barrové	Lidský herpesvirus (HSV) 1
Lidský herpesvirus (HSV) 2	Lidský cytomegalovirus	Virus příušnic
Virus parainfluenzy typu 4A	Virus parainfluenzy typu 4B	Parainfluenza typ 1
Parainfluenza typ 2	Parainfluenza typ 3	Lidský respirační syncytiální vir A
Lidský respirační syncytiální vir B	Virus spalniček	hMPV 16 typ A1
Lidský rhinovirus typ 1B	Rhinovirus typ A2	Lidský rhinovirus typ 14
Rhinovirus A16	Rotavirus A	Sendai virus
Virus zarděnek	Virus Coxsackie A9	Virus Coxsackie B4
Virus Coxsackie B5	Lidský echovirus 2	Lidský echovirus 6
Echovirus 7	Echovirus 11	Lidský enterovirus 71
Poliovirus 1	Enterovirus D68	

Testované mikroorganismy		
Bordetella pertussis	*Mycobacterium avium*	*Staphylococcus epidermidis*
Candida albicans	*Mycobacterium tuberculosis*	*Staphylococcus haemolyticus*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*	*Staphylococcus haemolyticus*
Enterococcus faecalis	*Neisseria lactamica*	*Streptococcus pneumoniae*
Escherichia coli	*Neisseria gonorrhoeae*	*Streptococcus pyogenes*
Fusobacterium necrophorum	*Neisseria meningitidis*	*Streptococcus salivarius*
Haemophilus influenzae	*Neisseria sp. (Neisseria lactamica)*	*Streptococcus anginosus*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus vulgaris*	*Pneumocytis jirovecci(PJP)*
Legionella pneumophila	*Pseudomonas aeruginosa*	*Shromážděný lidský nazální výplach*
Moraxella catarrhalis	*Corynebacterium diphtheriae*	*Enterococcus faecium*
Lactobacillus plantarum	*Neisseria sicca*	*Streptococcus agalactiae*
Streptococcus bovis	*Streptococcus oralis*	*Arcanobacterium haemolyticum*
Staphylococcus aureus		

5. Interferující látky

Následujících 53 potenciálně interferujících látek (5 opakování u každého z nich) nemá žádný vliv na test Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) s výjimkou albuminu v koncentracích nad 55 g/l.

PŘÍPRAVA

1 Skladují-li se všechny součásti sady v chladničce, musí se před provedením zkoušky zahřát na pokojovou teplotu (15–30 °C) po dobu nejméně 30 minut. Neotvírejte sáček, dokud komponenty nedosáhnou pokojové teploty.

Poznámka: Zdravotničtí pracovníci by měli dodržovat pokyny pro osobní bezpečnost, včetně používání osobních ochranných prostředků.

---

2 **Otevřete balení a ověřte přítomnost následujících položek:**

1. Testovací zařízení s vysoušedlem v samostatném fóliovém sáčku
2. Zkumavka s extrakčním pufrem ve fóliovém sáčku
3. Uzávěr trysky
4. Sterilizovaný pěnový tampón pro odběr vzorků z nosohltanu
5. Stojan na zkumavky
6. Pokyny pro použití se stručnou referenční příručkou

---

3 Před použitím testu Panbio™ COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (NP) si pečlivě přečtěte tyto pokyny.

---

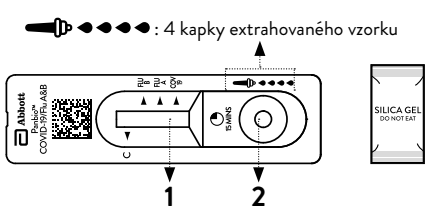
4 Podívejte se na datum použitelnosti sady. Pokud uplynula doba použitelnosti, vyberte jinou sadu pro použití.

---

5 **Otevřete fóliový sáček testovacího zařízení a ověřte přítomnost následujících položek:**

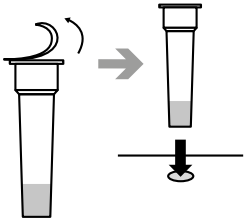
1. okno s výsledky,
2. miska na vzorek

Poté označte zařízení identifikátorem pacienta.

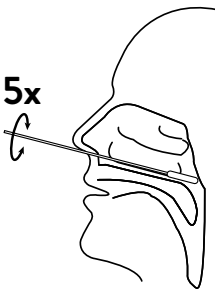


POSTUP TESTOVÁNÍ

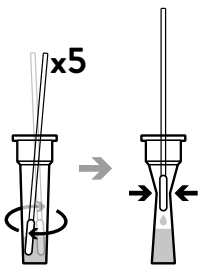
1 Zkumavku s extrakčním pufrem udržujte ve svislé poloze a odstraňte fólii. Umístěte zkumavku s extrakčním pufrem do stojanu na zkumavky.



2 Zakloňte hlavu pacienta dozadu (asi 45°–70°). Zaveďte tampón do nosní dírky. Jemně třete a pětkrát otáčejte tampónem. Nechte tampón několik sekund na místě. Pomalu odstraňte tampón.



3 Vložte vzorek tampónu do zkumavky s extrakčním pufrem. Otáčejte špičkou tampónu v pufrové tekutině uvnitř zkumavky s extrakčním pufrem, nejméně pětkrát zatlačte na stěnu zkumavky a poté vymáčkněte tampón stlačením zkumavky s extrakčním pufrem mezi prsty.

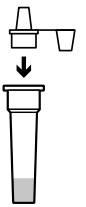


4 Použité tampóny zlikvidujte v souladu s místními předpisy a protokolem o likvidaci biologického odpadu.



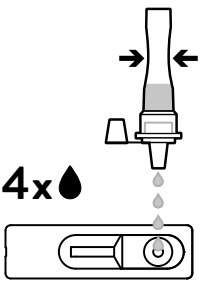
POSTUP TESTOVÁNÍ

5 Pevně zatlačte uzávěr trysky na zkumavku s extrakčním pufrem.



6 Nadávkujte 4 kapky extrahovaných vzorků svisle do misky na vzorek na zařízení.

⚠ **Upozornění:** Nemanipulujte s testovacím zařízením ani s ním nepohybujte, dokud není test dokončen a připraven k odečtení.



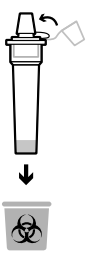
7 Spusťte časovač. Odečtěte výsledek za 15 minut.

Výsledek odečtěte do uplynutí 20 minut.

Poznámka: Kontrolní linie („C“) se může objevit v okně výsledků během několika minut, ale testovací linie („FLU B“, „FLU A“, „COV 19“) se může zobrazit až za 15 minut.



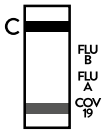
8 Uzavřete trysku připojeným víčkem a zlikvidujte zkumavku s extrakčním pufrem v souladu s místními předpisy a protokolem o likvidaci biologického odpadu.



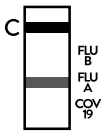
INTERPRETACE VÝSLEDKU TESTU

POZITIVNÍ

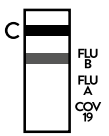
- **Pozitivní na COVID-19:** Přítomnost dvou zbarvených čárek (testovací linie „COV 19“ a kontrolní linie „C“) v okénku s výsledky.



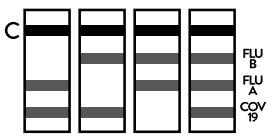
- **Pozitivní na chřipku typu A:** Přítomnost dvou zbarvených čárek (testovací linie „FLU A“ a kontrolní linie „C“) v okénku s výsledky.



- **Pozitivní na chřipku typu B:** Přítomnost dvou zbarvených čárek (testovací linie „FLU B“ a kontrolní linie „C“) v okénku s výsledky.



- **Více pozitivních výsledků:** Přítomnost tří a čtyř zbarvených linií (testovací linie „FLU B“, „FLU A“, „COV 19“ a kontrolní linie „C“) v okénku s výsledky.



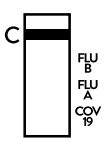
⚠ **Upozornění:** Přítomnost jakékoli testovací linie („FLU B“, „FLU A“, „COV 19“), bez ohledu na to, jak slabá je, znamená pozitivní výsledek.

Poznámka: V případě více pozitivních výsledků by si měl být uživatel vědom této jedinečné situace, protože oba se mohou projevovat podobnými příznaky, ale liší se svou léčbou.

Upozorňujeme, že test poskytuje předběžné výsledky testu.

NEGATIVNÍ

Přítomnost pouze kontrolní linie („C“) a žádné testovací linie („FLU B“, „FLU A“, „COV 19“) v okénku s výsledky označuje negativní výsledek.

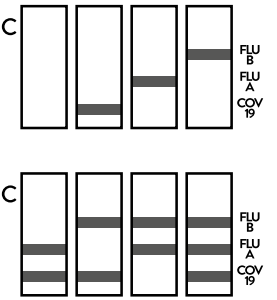


INTERPRETACE VÝSLEDKU TESTU

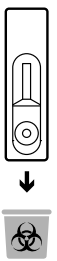
NEPLATNÝ

Není-li kontrolní linie („C“) po provedení testu viditelná v okénku s výsledky, považuje se výsledek za neplatný (i když může být viditelná testovací linie).

Pokyny nemusely být správně dodrženy. Doporučuje se počkat 4 hodiny, znovu si přečíst pokyny pro použití a odebrat nový vzorek a znovu otestovat pomocí nového testovacího zařízení.



9 Použité zařízení zlikvidujte v souladu s místními předpisy a protokolem o likvidaci biologického odpadu.



REFERENCES / REFERENCIAS / REFERÊNCIAS / REFERINȚE / LITERATURA / СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / PIŚMIENNICTWO / ODKAZY

1. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. J Autoimmun. 2020 May;109:102433. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102433.
2. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. Mil Med Res. 2020 Mar 13;7(1):11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0.
3. Lai CC, Shih TP, Ko WC, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. J Antimicrob Agents. 2020 Mar;55(3):105924. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924. Epub 2020 Feb 17.
4. "Flu Symptoms & Diagnosis". Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 10 July 2019. Retrieved 24 January 2020.
5. "Flu Symptoms & Complications". Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 26 February 2019. Retrieved 6 July 2019.
6. Current Intelligence Bulletin 13: Explosive Azide Hazard DHHS (NIOSH) Publication Number 78-127 August 16, 1976.
7. CDC. Discontinuation of Transmission-Based Precautions and Disposition of Patients with COVID-19 in Healthcare Settings (Interim Guidance). (2020).
8. CDC. Duration of Isolation of Precautions for Adults with COVID-19. (2020).
9. Bullard, et al. Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. Clin Infect Dis. 2020 Dec 17;71(10):2663-2666. doi: 10.1093/cid/ciaa638.

GLOSSARY OF SYMBOLS / GLOSARIO DE SÍMBOLOS / GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS / GLOSAR DE SIMBOLURI / REČNIK SIMBOLA / УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ / OBJAŚNIENIE SYMBOLI / SLOVNÍK SYMBOLŮ

	Temperature limitation Limitación de temperatura Limitação de temperatura Limite de temperatură Ograničenje temperature Ограничение температуры Ograniczenie temperatury Omezení týkající se teploty
IVD	For *in vitro* diagnostic use only Para uso diagnóstico *in vitro* únicamente Somente para uso em diagnóstico *in vitro* Destinat utilizării doar pentru diagnostic *in vitro* Samo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu Только для диагностики *in vitro* Wyłącznie do użytku w diagnostyce *in vitro* Pouze k použití pro diagnostiku *in vitro*
	Do not reuse No reutilizar Não reutilizar A nu se reutiliza Ne koristiti ponovo Повторное использование запрещено Nie używać ponownie Nepoužívejte opakovaně
	Do not use if package is damaged No lo use si el envase está dañado Não usar se a embalagem estiver danificada A nu se utiliza dacă ambalajul este deteriorat Ne koristiti ako je pakovanje oštećeno Не использовать при повреждении упаковки Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone Nepoužívejte, je-li je obal poškozen

LOT	Lot Number Número de lote Número do lote Număr de lot Broj serije Номер партии Numer partii Číslo šarže
REF	Catalog Number Número de catálogo Número de catálogo Număr de catalog Kataloški broj Номер по каталогу Numer katalogowy Katalogové číslo
	Consult instructions for use Consulte las instrucciones de uso Consulte as instruções de uso A se consulta instrucțiunile de utilizare Pogledajte uputstvo za upotrebu Обратитесь к инструкциям по применению Sprawdzić w instrukcji użycia Prostudujte si návod k použití
	Keep dry Manténgase seco Mantenha seco A se păstra uscat Održavajte suvim Беречь от влаги Chronić przed wilgocią Uchovávejte v suchu
	Biological Risks Riesgos biológicos Riscos biológicos Riscuri biologice Biološki rizici Биологическая опасность Zagrożenie biologiczne Biologická rizika

	Use By Fecha de caducidad Usar até A se utiliza până la Upotrebiti do Срок годности Użyć przed Spotřebujte do
	Manufacturer Fabricante Fabricante Producător Proizvođač Производитель Producent Výrobce
	Date of manufacture Fecha de fabricación Data de fabricação Data fabricației Datum proizvodnje Дата изготовления Data produkcji Datum výroby
	Keep away from sunlight Manténgase alejado de la luz solar Mantenha longe da luz solar A se feri de lumina solară Držati dalje od sunčeve svetlosti Беречь от солнечных лучей Chronić przed światłem słonecznym Udržujte mimo dosah slunečního záření
	CE mark Marca CE Marca CE Marcaj CE CE oznaka Маркировка CE Znak CE Označení CE

	Contains sufficient for X tests Contiene suficiente producto para X pruebas Contém o suficiente para X testes Conține o cantitate suficientă pentru X teste Sadržaj dovoljno za X testova Содержимого достаточно для проведения X тестов Zawiera ilość wystarczającą do wykonania X testów Obsahuje dostatečné množství pro X testů
	Caution Precaución Cuidado Atenție Oprez Внимание Ostrzeżenie Upozornění
STERILE EO	Sterilized using ethylene oxide Esterilizado con óxido de etileno Esterilizado com óxido de etileno Sterilizat cu oxid de etilenă Sterilisano etilen-oksidom Стерилизовано с помощью этиленоксида Wyrób sterylizowany tlenkiem etylenu Sterilizováno etylénoxidem
STERILE R	Sterilized using irradiation Esterilizado mediante irradiación Esterilizado por irradiação Sterilizat prin iradiere Sterilisano zračenjem Стерилизовано путем облучения Wyrób sterylizowany za pomocą promieniowania Sterilizováno ozařováním
	Do not re-sterilize No lo vuelva a esterilizar Não reesterilizar A nu se resteriliza Ne sterilisati ponovo Не стерилизовать повторно Nie sterylizować ponownie Nesterilizujte opakovaně

TECHNICAL SUPPORT / SOPORTE TÉCNICO / SUPORTE TÉCNICO / ASISTENȚĂ TEHNICĂ / TEHNIČKA PODRŠKA / ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА / WSPARCIE TECHNICZNE / TECHNICKÁ PODPORA	
Europe and Middle East / Europa y Medio Oriente / Europa e Oriente Médio / Europa și Orientul Mijlociu / Evropa i Bliski istok / Европа и Ближний Восток / Europa i Bliski Wschód / Evropa a Střední východ	+44 161 483 9032 EME.TechSupport@abbott.com
Africa / África / África / Africa / Afrika / Африка / Afryka / Afrika	+27 10 500 9700 arcis.techsupport@abbott.com
Russia and CIS / Rusia y CEI / Rússia e CEI / Rusia și CSI / Rusija i ZND / Россия и СНГ / Rosja i WNP / Rusko a SNS	+7 499 403 9512 arcis.techsupport@abbott.com
Asia Pacific / Asia Pacífico / Ásia-Pacífico / Asia Pacific / Azija-Pacifik / Азиатско-Тихоокеанский регион / Azja i rejon Pacyfiku / Asie a Tichomoří	+61 7 3363 7711 AP.TechSupport@abbott.com
Latin America / América Latina / América Latina / America Latină / Latinska Amerika / Латинская Америка / Ameryka Łacińska / Latinská Amerika	+57 60 1794 5968 LA.TechSupport@abbott.com
Canada / Canadá / Canadá / Canada / Kanada / Канада / Kanada / Kanada	+1 800 818 8335 Canproductsupport@abbott.com

- MEMO -

- MEMO -

- MEMO -

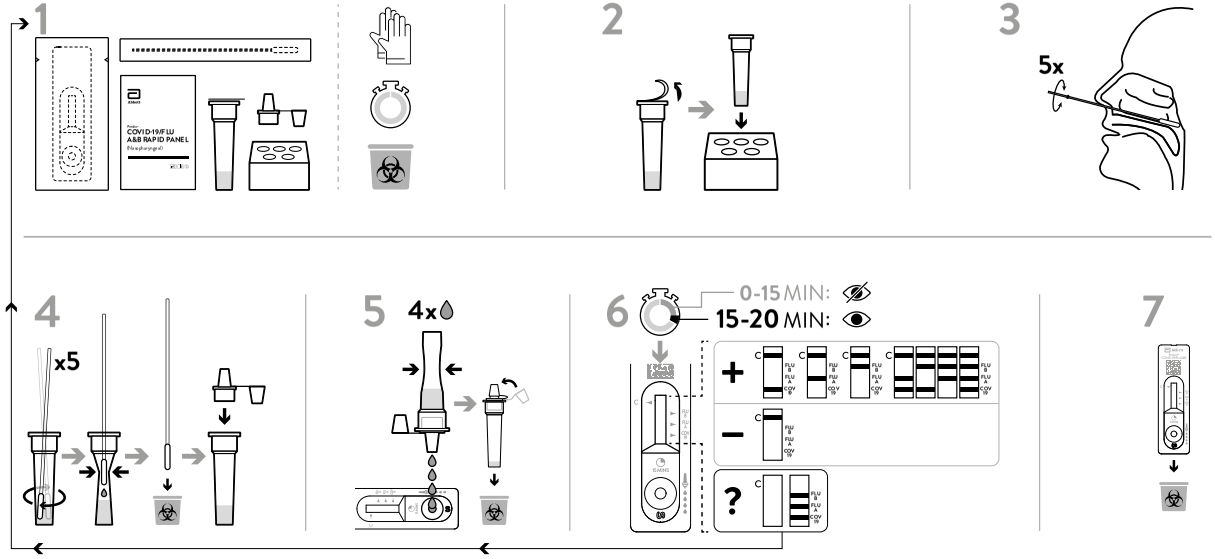
- MEMO -

Panbio™

COVID-19/Flu A&B Rapid Panel (Nasopharyngeal)

Abbott

REF 62FK10



FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN	CÓDIGO DE BARRAS
08394	Caja x 500 Unidades	(01)00000000083942

MATERIAL	
Polietileno (PE)  COPIA DE DOCUMENTO	
DIMENSIÓN	• Longitud: 160 mm • Volumen: 3 mL
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Pipeta Pasteur desechable ideal para transferir y dispensar líquidos sin preocuparse por la contaminación cruzada. Las Pipetas Pasteur desechables están listas para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlas y tomar las medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque, temperatura de 15°C a 30°C; humedad relativa 40 a 70 %HR.	
ESTERILIZACIÓN	SI [ ] NO [X] N/A [ ]
REUSO	SI [ ] NO [X] N/A [ ]
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP. • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.
ELIMINACIÓN	

- Si el artículo ha tenido contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico.
- Si el artículo no ha tenido contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/Ene/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución
2	19/Abr/2023	Se incluye Fotografía del producto
3	03/Abr/2024	Se incluye código de barras

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador Control de Calidad **Fecha:** 03/Abr/2024	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador Sistemas Integrados de Gestión **Fecha:** 03/Abr/2024	 **Nombre:** Karen Paola Baena Reales **Cargo:** Director Técnico de Reactivos de Diagnóstico Invitro - Jefe Posventa **Fecha:** 03/Abr/2024  **Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera **Cargo:** Director Técnico de Dispositivos Médicos - Gerente **Fecha:** 03/Abr/2024

COPIA DE DOCUMENTO

Prohibida su venta o distribución en Estados Unidos de América

Panbio Dengue Early ELISA

Cat No. 01PE40

USO PREVISTO

El ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio es un ensayo ELISA para la captura del antígeno NS1 del dengue. Se utiliza para la detección cualitativa del antígeno NS1 en suero como ayuda para el diagnóstico en laboratorios clínicos de pacientes con síntomas clínicos indicativos de fiebre del dengue. El ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio debe utilizarse junto con otros análisis serológicos para el dengue.

INTRODUCCIÓN

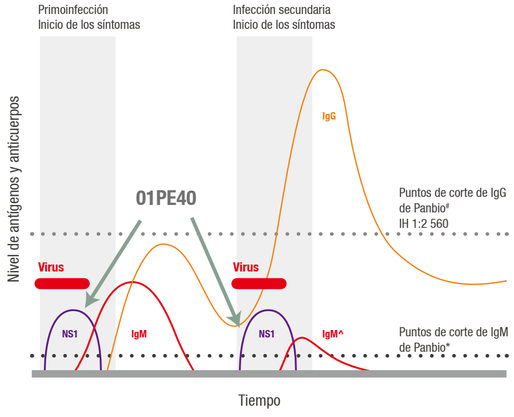
El virus del dengue pertenece a la familia de los flavivirus, que se encuentra en regiones extensas de los trópicos y los subtrópicos. Más de la mitad de la población mundial vive en regiones con riesgo de una posible transmisión del dengue, lo que lo convierte en la enfermedad causada por arbovirus más importante en seres humanos, en términos de morbididad y mortalidad[1]. Existen cuatro serotipos del virus del dengue claramente diferenciados pero antigénicamente relacionados que se transmiten por medio de mosquitos hembra, principalmente los de las especies *Aedes aegypti, Aedes albopictus y Aedes polynesienses.*

La infección por el virus del dengue presenta manifestaciones clínicas variadas, desde asintomáticas a mortales. La enfermedad puede clasificarse en función de su gravedad en los siguientes tipos: enfermedad febril no específica, fiebre del dengue clásico, fiebre del dengue hemorrágico (FDH) (grados I y II) y síndrome de choque por dengue (SCD) (grados III y IV)[1]. La fiebre del dengue clásico se caracteriza por la aparición repentina de fiebre, que se manifiesta junto con dos o más de los siguientes síntomas: cefalea, dolor retroorbitrario, mialgia, artralgia, exantema, manifestaciones hemorrágicas o leucopenia[2]. Es frecuente una evolución febril bifásica, así como insomnio y anorexia con pérdida del sentido del gusto o un sabor amargo. La fiebre hemorrágica del dengue y el síndrome de shock por dengue son complicaciones graves potencialmente mortales que a menudo se asocian a la infección por un segundo serotipo[3].

El diagnóstico precoz del dengue permite administrar un tratamiento sintomático y una monitorización tempranas. Esto reduce el riesgo de complicaciones tales como la fiebre hemorrágica del dengue o el síndrome de shock del dengue, especialmente en los países en los que el dengue es endémico[4].

La detección del antígeno NS1 del dengue con el ensayo ELISA es un procedimiento muy útil, ya que permite detectar la infección antes de que tenga lugar la seroconversión. El antígeno NS1 se puede detectar en el suero desde el día 1 tras el inicio de la fiebre y hasta el día 9[5,6,7] (véase la ilustración). En contraste, los anticuerpos IgM no son detectables hasta los días 3–5[8,9]. La infección secundaria por virus del dengue se caracteriza por altos niveles de IgG, con un intervalo de detección óptimo entre 6 y 15 días después del comienzo de la enfermedad, que pueden estar acompañados de niveles elevados de IgM[10,11]. El ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgG contra el dengue de Panbio está diseñado para detectar los altos niveles de anticuerpos IgG específicos de la infección por dengue por encima de este umbral. El ensayo, sin embargo, no detecta las concentraciones bajas de anticuerpos IgG de exposiciones pasadas que, con frecuencia, presentan muchos sujetos procedentes de regiones endémicas. Para obtener el diagnóstico más exacto posible del dengue en pacientes que acudan en varias etapas de la enfermedad, conviene combinar el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio (01PE40), el ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgM contra el virus del dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgG contra el virus del dengue de Panbio (01PE10).

Infección por dengue : respuesta inmunitaria



\# Puntos de corte del cartucho de dengue Duo y del ensayo ELISA de captura de IgG de Panbio. Equivale aproximadamente a un título de 2 560 en la prueba de inhibición de hemaglutinación (IH).
* Puntos de corte del cartucho de dengue Duo y del ensayo ELISA de captura de IgM de Panbio.
^ Los niveles de IgM en una infección secundaria pueden ser indetectables.

PRINCIPIO

Cuando está presente, el antígeno sérico NS1 del dengue se une a los anticuerpos anti–NS1 ligados a la superficie de poliestireno de los micropocillos. El suero restante se elimina mediante lavado y se agrega anticuerpo monoclonal (MAb) anti–NS1 conjugado con peroxidasa de rábano (HRP). Después del período de incubación, los micropocillos se lavan y se agrega un sistema de sustrato incoloro de tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno (cromógeno de TMB). La enzima hidroliza el sustrato y la TMB se vuelve de color azul. Después de detener la reacción con ácido, la TMB se vuelve de color amarillo. Los cambios de color indican la presencia del antígeno NS1 del dengue en la muestra de la prueba.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. *Micropocillos recubiertos de anticuerpos anti–NS1 (12 x 8 pocillos)*: los micropocillos están recubiertos de anticuerpos anti–NS1. Listo para usar. Los micropocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de un secante. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
2. *MAb anti–NS1 conjugado con HRP*: un frasco de 15 mL (**naranja**). Anticuerpo monoclonal anti–NS1 conjugado con peroxidasa de rábano con conservante (Proclin™ al 0,1%). Listo para usar. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
3. *Tampón de lavado (20x)*: un frasco de 60 mL de solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2–7,6) concentrada 20x con Tween 20 y conservante (Proclin™ al 0,1%). A temperaturas bajas puede producirse cristalización. Para corregirla, incube a una temperatura de 37 °C hasta que desaparezca. Mezcle bien. Diluya una parte del tampón de lavado concentrado con 19 partes de agua destilada. El tampón diluido puede almacenarse durante una semana entre 2 y 25 °C.
4. *Diluyente para muestra*: un frasco de 22 mL (**marrón**). Listo para usar. Solución salina tamponada con Tris (pH 7,2–7,6) con conservantes (Proclin™ al 0,1%) y aditivos. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
5. *Cromógeno TMB (TMB)*: un frasco de 15 mL. Listo para usar. Una mezcla de 3,3',5,5'–tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno en un tampón de citrato–ácido cítrico (pH 3,5–3,8). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
6. *Control positivo*: un vial de tapón **morado** con 1,2 mL de antígeno recombinante (contiene Proclin™ al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
7. *Calibrador*: dos viales de tapón **naranja** con 1,5 mL de antígeno recombinante (contiene Proclin™ al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
8. *Control negativo*: un vial de tapón **blanco** con 1,2 mL de suero humano (contiene acida sódica al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
9. *Solución de parada*: un frasco de tapón **rojo** con 15 mL. Listo para usar. Ácido fosfórico 1M. Estable entre 2 y 25 °C hasta su caducidad.

Proclin™ 300 es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

※ Clasificación según la normativa (CE) n.º 1272/2008:

Identificador del producto	**Nombre comercial**	Tampón de lavado, Diluyente para muestra, Conjugados con HRP, Control positivo, Calibrador
	Sustancia peligrosa	Proclin 300 (5–chloro–2–methyl–4– isothiazolin–3–one [EC no. 247–500–7] and 2–methyl–2H –isothiazol–3–one [EC no. 220–239–6] (3:1), CAS No. 55965–84–9)
Clasificación		Corrosión o irritación cutáneas Categoría2 Lesiones o irritación ocular graves Categoría2 Sensibilización cutánea Categoría1
Pictograma de riesgo		
Palabra de advertencia		Atención
Indicación de peligro		H315: Provoca irritación cutánea H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel H319: Provoca irritación ocular grave
Consejos de prudencia		
Prevención		P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P264: Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación P272: Las prendas de trabajo contaminadas no deben sacarse del lugar de trabajo P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
Respuesta		P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P321: Se necesita un tratamiento específico P332+P313: En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico P337+P313: Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico P362: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas
Eliminación		P501: Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local, regional, nacional o internacional

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Micropipetas de precisión ajustables con puntas de pipeta desechables (capacidad 5–1000 µL)
2. Agua desionizada
3. Sistema de lavado de microplacas
4. Lector de microplacas con un filtro de 450 nm
5. Cronómetro
6. Probeta graduada
7. Matraz
8. Tubos de ensayo o microplaca para diluciones

PRECAUCIONES
PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

1. Todas las muestras de origen humano utilizadas en la preparación de los controles han dado resultados negativos en las pruebas para los virus 1 y 2 de la inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), el virus de la hepatitis C (VHC) y el antígeno de superficie de la hepatitis B. Sin embargo, ningún método ofrece una garantía completa y todos los controles y antígenos humanos deben manipularse como material potencialmente infeccioso. Los Centers for Disease Control and Prevention y los National Institutes of Health recomiendan manipular los agentes potencialmente infecciosos en laboratorios de contención biológica de nivel 2[12].
2. Esta prueba solo debe realizarse con suero. No se ha establecido el uso de sangre completa, plasma u otras matrices de muestras.
3. No se deben utilizar sueros ictéricos o lipidémicos o sueros que presenten hemólisis o crecimiento microbiano.
4. No inactive los sueros con calor.
5. Todos los reactivos deben estar estabilizados a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) antes de comenzar el ensayo. Los cambios de temperatura afectan al ensayo. No saque los micropocillos de la bolsa cerrada hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C).
6. Dispense los reactivos directamente de los frascos utilizando puntas de pipeta limpias. Al transferirlos pueden contaminarse.
7. Los micropocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de un secante. Si no se lleva a cabo este paso pueden obtenerse resultados erróneos.
8. Sistema de sustrato:
   (a) Dado que la TMB se puede contaminar con iones metálicos, no permita que el sistema de sustrato entre en contacto con superficies metálicas.
   (b) Evite una exposición prolongada a la luz directa.
   (c) Algunos detergentes pueden interferir con el rendimiento de la TMB.
   (d) La TMB puede presentar un tenue color azulado, lo que no afecta a la actividad del sustrato ni a los resultados del ensayo.

⚠

9. Algunos componentes del kit contienen acida sódica, que puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar compuestos de acidas metálicas altamente explosivos. Al desechar estos reactivos por las tuberías, hágalo vertiendo una gran cantidad de agua con el fin de evitar que la acida se acumule en las cañerías.
10. La acida sódica inhibe la actividad del conjugado. Para agregar el conjugado deben utilizarse puntas de pipeta limpias, de forma que no se transfiera acida sódica de otros reactivos.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

La sangre extraída por venopunción debe dejarse coagular a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) y centrifugarse siguiendo el procedimiento del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, Approved Standard – Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3).
El suero debe separarse lo antes posible y conservarse refrigerado (2 – 8 °C) o congelado (≤ –20 °C) si no se va a analizar en el plazo de dos días. No se recomienda usar congeladores con descongelación automática para almacenar las muestras. No se recomienda emplear sueros ictéricos o sueros que presenten hemólisis, lipidemia o crecimiento microbiano. El CLSI proporciona recomendaciones para almacenar las muestras de sangre (Approved Standard – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Nota: compruebe que todos los reactivos se han estabilizado a temperatura ambiente (20–25 °C) antes de comenzar el ensayo. Si lleva a cabo el ensayo fuera de los intervalos de tiempo y temperatura proporcionados, se pueden obtener resultados incorrectos. Los ensayos que se realicen fuera de los intervalos de tiempo y temperatura establecidos deben repetirse.

Predilución del control y de la muestra

1. Saque el número necesario de micropocillos de la bolsa de aluminio e insértelos en el soporte para tiras. Se necesitan cinco micropocillos para el control positivo (P), el control negativo (N) y el calibrador (CAL) por triplicado. Asegúrese de que los micropocillos que no se utilicen se vuelven a guardar en la bolsa de aluminio sellada con el secante.
2. Usando tubos de ensayo o una placa de microtitulación adecuados, diluya el control positivo, el control negativo, el calibrador y las muestras del paciente.
   Agregue 75 µL de diluyente para muestra a 75 µL de muestra. Mezcle bien.
   La dilución final de la muestra es de 1 a 2.

⚠

No agite los controles en el vórtex. Los controles contienen glicerol. Asegúrese de que los controles diluidos están bien mezclados. Mezcle bien por inversión o pipeteando con suavidad. La agitación en un vórtex no es eficaz.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ELISA

N	4
P	5
CAL	6
CAL	7
CAL	8
1	9
2	10
3	11

1. Pipetee 100 µL de las muestras de análisis y los controles diluidos en sus respectivos micropocillos.
2. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.
3. Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado).
4. Pipetee 100 µL de MAb anti–NS1 Conjugado con HRP en cada pocillo.
5. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.
6. Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado).
7. Pipetee 100 µL de TMB en cada pocillo.
8. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C), cronometrando desde la primera adición. Se formará un color azul.
9. Pipetee 100 µL de la solución de parada en todos los pocillos en el mismo orden y tiempo que cuando se agregó la TMB. Mezcle bien. El color azul cambiará a amarillo.
10. Antes de 30 minutos, lea la absorbancia de cada pocillo a una longitud de onda de 450 nm con un filtro de referencia de entre 600 y 650 nm.

Nota: si dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fije el filtro de referencia entre 600–650 nm. Si lee los micropocillos a una longitud de onda de 450 nm sin un filtro de referencia, puede obtener valores de absorbancia más elevados debido al fondo.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Un lavado eficaz para eliminar los componentes o muestras sin acomplejar es un requisito fundamental del procedimiento del ensayo ELISA.

A. Dispositivo de lavado de placas automatizado
(1) Aspire completamente todos los pocillos.
(2) Llene todos los pocillos hasta el borde (350 µL) durante el ciclo de lavado.
(3) Al terminar los seis (6) lavados, invierta la placa y golpee firmemente sobre papel absorbente para garantizar que se elimina todo el tampón.
(4) Los dispositivos de lavado de placas automatizados deben mantenerse adecuadamente con el fin de garantizar la eficacia de los lavados. Deben seguirse siempre las instrucciones de limpieza del fabricante.

B. Lavado manual
(1) Deseche el contenido de la placa en un contenedor apropiado.
(2) Llene los pocillos con tampón de lavado utilizando una botella flexible adecuada. Procure que no se formen burbujas en el tampón de lavado, ya que esto reduciría la eficacia. Deseche el tampón de lavado de los pocillos inmediatamente.
(3) Vuelva a llenar los pocillos con tampón de lavado y deséchelo rápidamente.
(4) Repita el paso (3) otras cuatro veces. Esto da un total de seis (6) lavados con tampón de lavado.
(5) Después del último lavado, elimine el contenido de los pocillos y golpee la placa sobre papel absorbente para garantizar que se ha eliminado todo el tampón de lavado.

CONTROL DE CALIDAD

Cada kit contiene un calibrador y controles positivos y negativos, cuyos valores aceptables se encuentran en la hoja de especificaciones que se incluye en el estuche. Los controles negativos y positivos están previstos para controlar un fallo sustancial del reactivo. El control positivo no asegura la precisión del punto de corte del ensayo. El análisis no es válido y se debe repetir si las lecturas de absorbancia de los controles o del calibrador no cumplen las especificaciones. Si el resultado del análisis no es válido, no se pueden presentar los resultados del paciente.
Los requisitos del control de calidad deben ajustarse a la normativa local o nacional (o a los requisitos de acreditación) y a los procedimientos de control de calidad normalizados de su laboratorio.
Se recomienda al usuario que consulte los documentos CLSI C24–A y 42 CFR 493.1256 para obtener información acerca de los procedimientos de control de calidad adecuados.

CÁLCULOS

NOTA IMPORTANTE: el factor de calibración es específico de cada lote y figura en la hoja de datos técnicos. Consulte el valor del factor de calibración antes de comenzar los cálculos.

1. Calcule la absorbancia promedio de los triplicados del calibrador y multiplique por el factor de calibración. Este es el valor del punto de corte.
2. El valor índice se puede calcular dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor del punto de corte (calculado en el paso (1)).

De manera alternativa:

3. Las unidades Panbio se pueden calcular multiplicando el valor índice (calculado en el paso (2)) por 10.

Valor índice = $\frac{\textbf{absorbancia de la muestra}}{\textbf{Valor del punto de corte}}$

Ejemplo: absorbancia de la muestra A = 0.949
Absorbancia de la muestra B = 0.070
Absorbancia media del calibrador = 0,802
Factor de calibración = 0,62
Valor del punto de corte = 0,802 x 0,62 = 0,497

Muestra A (0.949/0.497) = 1.91 de valor
Muestra B (0.070/0.497) = 0.14 de valor

Unidades Panbio = Valor índice X 10

Muestra A 1.91 X 10 = 19.1 unidades Panbio
Muestra B 0.14 X 10 = 1.4 unidades Panbio

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El punto de corte se ha determinado utilizando poblaciones endémicas y no endémicas de Australia, Honduras y Tailandia.
Diagnóstico de infección por dengue: el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio determina la presencia del antígeno NS1 del dengue en el suero de un paciente. Un resultado positivo (> 11 Unidades Panbio) indica una primoinfección o infección secundaria activa por dengue. Si se necesita distinguir entre primoinfección e infección secundaria, debe emplearse el ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de IgG contra el dengue de Panbio (01PE10).

ÍNDICE	UNIDADES PANBIO	RESULTADO
<0.9	<9	Negativo
0.9 – 1.1	9 – 11	Dudoso
>1.1	>11	Positivo

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
Negative	No se detecta el antígeno NS1 del dengue. El resultado no descarta la infección por dengue. Esta muestra debe someterse a un análisis serológico. Si el resultado de esta muestra es negativo, pero se sospecha que puede estar infectada por el virus del dengue, conviene extraer y someter a un análisis serológico una muestra de seguimiento antes de 14 días desde la obtención de la primera muestra.
Dudoso	Se debe repetir el análisis de las muestras dudosas. Si las muestras siguen dando un resultado dudoso al repetir el ensayo, es necesario volver a analizarlas utilizando un método alternativo o bien obtener otra muestra.
Positivo	Presencia del antígeno NS1 del dengue detectable. Deben hacerse pruebas serológicas de dengue a muestras de seguimiento con el fin de confirmar la infección por dengue.

Forma recomendada de comunicar los resultados obtenidos: "Los siguientes resultados se obtuvieron con el kit del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Los valores obtenidos con métodos diferentes no pueden intercambiarse. La magnitud del resultado medido (por encima del punto de corte) no indica la cantidad total de antígeno presente". El resultado debe comunicarse como positivo, negativo o dudoso y no como un valor numérico.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El diagnóstico clínico debe interpretarse junto con los signos y síntomas clínicos del paciente. Los resultados de este kit no proporcionan por sí solos un diagnóstico concluyente. Por consiguiente, deben considerarse junto con otros síntomas y datos clínicos del paciente.
2. No se debe llevar a cabo un estudio de cribado de la población general. El valor de predicción positivo depende de la probabilidad de que el virus esté presente. Solo debe hacerse la prueba a pacientes que presenten síntomas clínicos o cuando se sospeche que han estado expuestos al virus.
3. Es frecuente encontrar una reacción serológica cruzada dentro del grupo de los flavivirus (es decir, entre dengue 1, 2, 3 y 4, encefalitis del valle de Murray, encefalitis japonesa, fiebre amarilla y el virus del Nilo Occidental). Antes de confirmar el diagnóstico, deben descartarse estas enfermedades.
4. No se han establecido las características de rendimiento para la determinación visual de los resultados.
5. Todos los sueros que den positivo en el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio deben remitirse a un laboratorio de referencia para confirmar el resultado positivo para el dengue y para su registro epidemiológico.
6. El ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de IgG contra el dengue de Panbio (01PE10) son los más convenientes para la determinación de los anticuerpos IgM e IgG. Ambos emplean el mismo método de captura, de manera que tanto los anticuerpos IgM como los anticuerpos IgG se determinan mediante el uso de un método y una dilución sérica comunes. También se pueden utilizar para la diferenciación provisional entre primoinfección e infección secundaria por dengue.

VALORES PREVISTOS

El antígeno NS1 del dengue solo se detecta en el suero del paciente en las primeras fases de la evolución de la enfermedad, entre 1 y 9 días después de la manifestación de los signos clínicos[5,6,7]. En el momento en que se producen los anticuerpos IgG anti–NS1 (lo que normalmente coincide con la defervescencia), el antígeno NS1 deja de ser detectable en suero. Por lo tanto, el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio es un marcador de infección aguda activa solamente. Fuera de este intervalo temporal, la infección por dengue debe diagnosticarse usando pruebas serológicas alternativas.

La primoinfección por dengue se caracteriza por la presencia de niveles significativos o aumentados de IgM a los 3 o 5 días del comienzo de la enfermedad, que pueden mantenerse durante 3 a 5 meses. La infección secundaria se caracteriza por altos niveles de IgG que ya se pueden detectar tres días después del comienzo de la infección, y que pueden ir acompañados de niveles de anticuerpos IgM elevados[10,11]. En fases tempranas de la infección y en algunas sobreinfecciones, los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Sin embargo, el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio ayuda a detectar la presencia incipiente del antígeno en suero. Si los síntomas persisten, se recomienda repetir las pruebas serológicas de los pacientes antes de 14 días desde la obtención de la primera muestra.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Centro de estudio 1
Se analizaron 235 muestras de suero retrospectivas de personas de distintas edades y ambos sexos con el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio en un centro altamente acreditado de Vietnam. Las muestras se extrajeron de pacientes que presentaban síntomas de dengue, y se caracterizaron mediante una combinación de PCR, cultivos de virus y ensayos ELISA para detectar IgG e IgM. Se incluyeron muestras de los siguientes grupos: 47 muestras de pacientes sin indicios serológicos o virológicos de infección aguda o reciente por dengue y 188 muestras de pacientes con dengue confirmado mediante análisis de laboratorio. Las muestras positivas procedían de pacientes con primoinfección (49) e infección secundaria (139) por dengue que habían sido infectados por los serotipos del virus del dengue 1, 2 y 3. La tabla 1 recoge un resumen de los datos.

Tabla 1: centro de estudio 1
Sensibilidad y especificidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

Estado del dengue	Positivo	Dudoso	Negativo	Total
Infección aguda por dengue	146	0	42	188
Negativo para dengue	3	0	44	47
Total	**149**	**0**	**86**	**235**

			95% CI#
Sensibilidad (positivo para dengue)	= 146/188	= 77.7%	71.7 – 83.6%
Especificidad	= 44/47	= 93.6%	82.5 – 98.7%
Concordancia total	= 190/235	= 80.9%	75.8 – 85.9%

* Intervalo de confianza

Centro de estudio 2
Se seleccionaron 257 pacientes que mostraban síntomas de fiebre (5 días tras el inicio de los síntomas) para participar en un estudio realizado por un laboratorio de referencia de Tailandia. Se analizaron las muestras para dengue agudo y se obtuvieron 75 muestras positivas y 182 muestras negativas para dengue. Las muestras positivas se debían a infecciones provocadas por los serotipos del virus del dengue 1, 2, 3 y 4. Todas las muestras se analizaron con el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. La tabla 2 recoge un resumen de los datos.

Tabla 2: centro de estudio 2
Sensibilidad y especificidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

Estado del dengue	Positivo	Negativo	Total
Infección aguda por dengue	57	18	75
Negativo para dengue	3	179	182
Total	**60**	**197**	**257**
			95% CI[#]
Sensibilidad (positivo para dengue)	= 57/75	= 76.0%	64.8 – 85.1%
Especificidad	= 179/182	= 98.4%	95.3 – 99.7%
Concordancia total	= 236/257	= 91.8%	87.8 – 94.9%

* Intervalo de confianza

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio se estableció analizando 8 muestras, tres veces cada una con tres lotes distintos del kit, en tres días distintos. La precisión total intraserial, interdiaria y entre lotes se estimó mediante el análisis de la varianza (ANOVA de tipo II) y se indica en la tabla 3.

Tabla 3
Mediciones de la precisión del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio (usando el valor índice*)

			Intraserial		Interdiaria		Entre lotes		Total	
Muestra	**n**	***Media**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**	***DE**	**CV**
Positivo	27	3.22	0.16	5.0%	0.05	1.7%	0.17	5.3%	0.22	6.8%
Calibrador	27	1.71	0.05	2.7%	0.00	0.0%	0.20	11.4%	0.17	9.8%
Negativo	27	0.22	0.03	11.4%	0.02	9.0%	0.05	21.4%	0.05	22.4%
#1	27	5.72	0.31	5.4%	0.29	5.1%	0.39	6.7%	0.51	8.9%
#2	27	5.02	0.17	3.4%	0.12	2.4%	0.12	2.4%	0.22	4.4%
#3	27	3.94	0.25	6.4%	0.13	3.4%	0.02	0.5%	0.28	7.0%
#4	27	1.44	0.08	5.3%	0.06	4.0%	0.06	3.9%	0.10	7.1%
#5	27	1.58	0.09	5.9%	0.00	0.0%	0.08	4.8%	0.11	7.0%
#6	27	1.85	0.14	7.5%	0.09	5.0%	0.11	6.1%	0.18	10.0%
#7	27	0.83	0.03	3.6%	0.00	0.0%	0.04	4.7%	0.04	5.3%
#8	27	0.88	0.07	7.6%	0.02	2.3%	0.02	2.2%	0.07	8.0%

Todos los valores están calculados a partir de valores índice (punto de corte mediante densidad óptica)
DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación

Nota: los resultados de desviación estándar se han redondeado a dos decimales por motivos de tabulación.
* El valor índice se calcula dividiendo la absorbancia de la muestra entre el valor del punto de corte.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizó un panel compuesto por 390 muestras de pacientes con enfermedades confirmadas distintas del dengue para establecer la especificidad analítica del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Las muestras procedían de pacientes con enfermedades con una posible reactividad cruzada. En cada una de las muestras incluidas en el estudio se identificó el diagnóstico de la enfermedad antes de aplicar el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Se observó una reactividad cruzada mínima entre las 390 muestras. Consulte la tabla 4 para ver un resumen de los resultados.

Tabla 4
Análisis de la reactividad cruzada del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

Tipo de Enfermedad*	Muestras totales	Resultado positivo
Virus de Epstein–Barr	28	0/28
Malaria	26	0/26
Anticuerpo antinuclear	16	0/16
Factor reumatoide	26	1/26
Hepatitis A	30	0/30
Leptospirosis	20	0/20
Virus del Nilo Occidental	10	0/10
Tifus de las malezas	7	2/7
Fiebre de chikungunya	32	1/32
Hepatitis B	30	5/30
Hepatitis C	26	0/26
Fiebre Q	24	0/24
Gripe	32	0/32
Virus del río Ross	23	0/23
Citomegalovirus	20	0/20
Rubéola	20	0/20
Sarampión	20	0/20
Total	**390**	**9/390**

* Caracterización basada en la serología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mairuhu ATA, Wagenaar J, Brandjes DPM and van Gorp ECM. (2004). Dengue: an arthropod–borne disease of global importance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **23**:425–433.
2. Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, Pletneve SV, Corver J, Lenches E, Jones CT, Muhkopadhyay S, Chipman PR, Strauss EG, Baker TS and Strauss JH. (2002). Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* **108**:717–725.
3. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongswasdi V, Suntayakorn S, Puttisri P and Hoke CH. (1989). An enzyme linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co–circulate. *Am J Trop Med Hyg.* **40**:418–427.
4. Ong A, Sandar M, Chen MI and Yee Sin L. (2007). Fatal dengue hemorrhagic fever in adults during a dengue epidemic in Singapore. *Int J Infect Dis.* **11 (3)**:263–267.
5. Librarty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, Vaugh DW, Nisalak A, Ennis FA and Rothman AL. (2002). High circulating levels of the dengue virus non–structural protein NS1 EARLY in dengue illness correlate with the development of dengue haemorrhagic fever. *J Infect Dis.* **186**:1165–1168.
6. Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V,and Flammand M (2002). Enzyme–linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. J *Clin Microbiol*. **40**:376–381.
7. Young PR, Hilditch PA, Bletchly C and Halloran W. (2000). An antigen capture enzyme–linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol.* **38**:1053–1057.
8. Lindegren G, Vene S, Lundkvist A and Falk KI. (2005). Optimized diagnosis of acute dengue fever in Swedish travelers by a combination of reverse transcription–PCR and Immunoglobulin M detection. *J Clin Microbiol*. **43**:2850–2855.
9. Shu P and Huang J. (2004). Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* **11**:642–650
10. Hawkes RA, Boughton CR, Naim HM, Wild J and Chapman B. (1985). Arbovirus infections of humans in New South Wales. Seroepidemiology of the flavivirus group of togaviruses. *Med J Aust.* **143**:555–561.
11. World Health Organisation. (1997). Dengue Haemorrhagic Fever: diagnosis, treatment, prevention and control, p34–36. 2nd edition. World Health Organisation Office of Publications Geneva, Switzerland.
12. U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. (1999). p. 8–16. *In* (ed.) Richmond JY, McKinney RW, Guidelines: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th Edition. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

Date Issued : 2016. 03
01PE40–01–Es–2

Información de contacto del servicio de asistencia técnica

Para obtener más información, póngase en contacto con su distribuidor o con los expertos en asistencia técnica:

Región	Teléfono	Dirección de correo electrónico
Europe & Middle East	+ 44 161 483 9032	EMEproductsupport@alere.com
Asia Pacific	+ 61 7 3363 7711	APproductsupport@alere.com
Africa, Russia, & CIS	+ 972 8 9429 683	ARCISproductsupport@alere.com
Latin America	+ 57 2 66 18797	LAproductsupport@alere.com

Manufactured by
STANDARD DIAGNOSTICS, INC.
65, Borahagal–ro, Giheung–gu, Yongin–si, Gyeonggi–do, Republic of Korea
Tel : 82–31–899–2958 Email : PanbioTS@alere.com
www.alere.com

Authorized Representative
MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80 D–66386 St. Ingbert Germany
Phone : +49 6894 581020, Fax : +49 6894 581021

PANBIO ELISA PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DEL DENGUE 01PE40

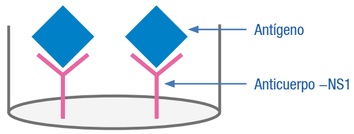
⚠ **No agite los controles en el vórtex. Mezcle bien por inversión o pipeteando con suavidad.**

◆ – Antígeno

1. Agregue 75 µL de diluyente para muestra a 75 µL de cada muestra y los controles. La dilución final es de 1 en 2.

2. Agregue 100 µL de controles y muestras diluidas a la placa de la prueba.

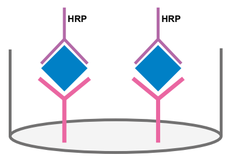
PLACA DE LA PRUEBA



3. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.

4. Lave la placa de la prueba seis (6) veces.

5. Agregue 100 µL de MAb anti–NS1 conjugado con HRP a cada pocillo de la placa de la prueba.



6. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.

7. Lave la placa de la prueba seis (6) veces. Después del último lavado, agregue 100 µL de TMB por pocillo e incube a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) durante 10 minutos. Detenga la reacción con 100 µL de solución de parada y realice la lectura a 450 nm (filtro de referencia entre 600 y 650 nm).

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

	Fabricante	CONTROL CAL	Calibrador
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea	CONTROL CAL DEN	Calibrador del dengue
REF	Número de catálogo	CONTROL CAL JE	Calibrador de EJ
IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*	CONTROL CO CAL	Calibrador de puntos de corte
LOT	N.º de lote	RF	Factor reumatoide
	Límite de temperatura	SAMP ABS	Absorbente de la muestra
		CONJ	Conjugado
YYYY.MM.DD	Fecha de caducidad	SAMP DIL	Diluyente para muestra
Σ (X)	Contenido suficiente para X pruebas	Ag	Antígeno
CE	Marcado CE conforme a la Directiva 98/79 CE relativa a los productos sanitarios para diagnóstico in vitro	Ag DIL	Diluyente para antígeno
	Precaución	Ag DEN	Antígenos 1 a 4 del dengue
	Consultar las instrucciones de uso	Ag JE	Antígeno de la EJ
MW Ag	Micropocillos recubiertos de antígenos	WASH BUF 20 X	Tampón de lavado 20x
MW Ab	Micropocillos recubiertos de anticuerpos	SUBS TMB	Sustrato de tetrametilbencidina
CONTROL +	Control positivo	SOLN STOP	Solución de parada
CONTROL –	Control negativo	AVD	Reactivo de avidez tamponado
CONTROL R	Control reactivo		

GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Valores de absorbancia altos	1. Contaminación cruzada con otras muestras.	▶ Repetir la prueba teniendo cuidado al lavar y pipetear.
	2. Lavado o lectura insuficiente o ineficaz.	▶ Comprobar la eficacia del dispositivo de lavado.
	3. La longitud de onda del filtro no es correcta.	▶ Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600–650 nm.
	4. Nivel de fondo alto.	▶ Repetir el ensayo e incluir un pocillo que solo contenga diluyente para muestra o absorbente de la muestra (es decir, un pocillo de blanco).
	5. TMB contaminada.	▶ Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	6. Tiempo de incubación demasiado largo o temperatura de incubación demasiado alta.	▶ Comprobar el tiempo y la temperatura de incubación. ▶ Comprobar que la incubadora está a la temperatura correcta.
	7. Dilución incorrecta del suero.	▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
Valores de absorbancia bajos	1. Tiempo de incubación demasiado corto o temperatura de incubación demasiado baja.	▶ Asegurarse de que el tiempo y la temperatura de incubación del ensayo son correctos. ▶ Comprobar que la incubadora está a la temperatura correcta.
	2. Dilución o pipeteado incorrecto del suero.	▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar las diluciones y los volúmenes correctos. ▶ Asegurarse de que los controles estén bien mezclados.
	3. Longitud de onda del filtro incorrecta.	▶ Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600–650 nm.
	4. Solución del conjugado contaminada.	▶ Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ▶ No devolver el conjugado no utilizado al frasco. ▶ Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
	5. El kit ha caducado.	▶ Comprobar la fecha de caducidad del kit y no usarlo si está caducado.
	6. Lectura alta del blanco de aire.	▶ Investigar las causas de la alta absorbancia del fondo.
	7. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	8. Los reactivos del kit no se han estabilizado a temperatura ambiente.	▶ Esperar suficiente tiempo a que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente antes del ensayo.
	9. Uso de reactivos incorrectos.	▶ Comprobar que los reactivos utilizados coinciden con los indicados en la hoja de especificaciones.
	10. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	11. Lavado insuficiente de la placa después del paso de incubación del suero (p. ej., lavado insuficiente durante el paso de lavado).	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
Duplicados deficientes	1. Mezcla de las muestras insuficiente.	▶ Mezclar los reactivos suavemente y estabilizar a temperatura ambiente.
	2. Baja precisión de la pipeta.	▶ Puede que haya que comprobar la calibración. ▶ Comprobar la técnica de pipeteado. Cambiar la punta de la pipeta para cada muestra y asegurarse de retirar el líquido sobrante del exterior de la punta.
	3. Adición de reactivos a intervalos no constantes; la adición del reactivo es demasiado lenta, se forman burbujas de aire al agregar los reactivos.	▶ Usar intervalos constantes durante la adición de los reactivos. ▶ Asegurarse de realizar todas las diluciones antes de empezar a añadir nada a la placa. ▶ Mejorar la técnica y la velocidad de pipeteado
	4. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	▶ Dar unos golpecitos para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ▶ Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	5. Lector no calibrado o precalentado antes de la lectura de la placa.	▶ Comprobar la precisión del lector. ▶ Consultar el manual del lector para confirmar el tiempo de precalentamiento del instrumento.
	6. La óptica no está limpia.	▶ Limpiar suavemente la parte inferior de la placa. ▶ Comprobar que la fuente de luz y el detector del lector están limpios.
	7. Derrame de líquido de los pocillos.	▶ Repetir la prueba, teniendo cuidado de no golpear la placa ni salpicar líquido.
	8. Las muestras de suero tienen crecimiento microbiano, hemólisis o lipidemia.	▶ No se recomienda usar muestras de suero con signos de crecimiento microbiano, hemólisis o lipidemia.
	9. Los volúmenes de los pocillos son desiguales debido a la evaporación.	▶ Cubrir la placa con una tapa o un sellador de placas (no suministrados).
Todos los pozos son amarillos	1. TMB contaminada.	▶ Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	2. Reactivos contaminados (conjugado o tampón de lavado).	▶ Comprobar si los reactivos presentan turbidez.
	3. Dilución incorrecta del suero.	▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	5. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	▶ Dar unos golpecitos para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ▶ Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	6. Si es necesario reconstituir el conjugado – Conjugado reconstituido incorrectamente.	▶ Repetir la prueba comprobando que el conjugado se reconstituye según el método del ensayo.
Todos los pocillos son negativos	1. La prueba no se realizó correctamente. No se agregaron los reactivos correctos o no se agregaron en el orden correcto.	▶ Consultar el procedimiento y comprobar si hay reactivos sin usar. ▶ Comprobar que la solución de parada no se haya agregado antes que el conjugado o la TMB. ▶ Comprobar que el suero se diluyó con el diluyente para muestra correcto; p. ej., no usar absorbente de la muestra para un ensayo ELISA de IgG.
	2. Solución del conjugado contaminada.	▶ Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ▶ No devolver el conjugado no utilizado al frasco. ▶ Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
	3. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	5. El tampón de lavado se ha hecho con solución de parada en lugar de tampón de lavado concentrado.	▶ Comprobar que el tampón de lavado se ha preparado correctamente.

VISUALIZACION



INFORMACION GENERAL

Este reactivo es producido a partir de suero de caprinos. Como no es de origen humano, no hay peligro de infección para los virus de la hepatitis ó VIH.

DESCRIPCION

1. Nombre del producto: **REACTIVO DE COOMBS POLIESPECÍFICO.**
2. Aplicación y uso:
   - Detección de anticuerpos irregulares en suero humano a través de la Prueba Indirecta de Coombs (PIC).
   - Detección de IgG y/o complemento sobre hematíes humanos a través de la Prueba Directa de Coombs (PDC), en pacientes ó donantes de sangre.
   - Determinación de grupos sanguíneos con antisueros previstos para la prueba de Coombs.
3. Componentes: Heterosueros, soluciones cristaloides, albúmuna bovina 1%, colorantes y preservantes.
4. Características macroscópicas: Color verde transparente y libre de partículas visibles.
5. Forma de empaque: 10 mililitros en frascos de vidrio con tapa rosca con gotero de vidrio incluido.
6. Características reactivas:
   a) Aglutina hematíes recubiertos con IgG y/o complemeto humano (C3d).
   b) Actividad mínima: Reacción de + a ++ con patrón Anti-D 1:16.
   c) pH 6.9-7.1
   d) Estabilidad: según se indica en la etiqueta
   e) Espécimen a estudiar: sueros y hematíes humanos tomados o no con anticoagulante
7. Condiciones de almacenamiento: Debe ser almacenado a temperaturas entre 2-8°C. Durante el transporte la temperatura no debe exceder 25°C por períodos superiores a 72 horas.
8. Preservativo: Acida sódica 1 mg/ml

Metodología para su uso:

Prueba Directa de Coombs.

- Lavar 3 a 4 veces una suspensión de los hematíes problema con abundante solución salina isotónica (SS) ó solución salina tamponada (PBS). Cada vez la cantidad de solución lavadora debe ser, al menos cien veces el volumen de hematíes a procesar.
- Resuspender los hematíes al 3-5 % en SS ó PBS.
- En un tubo de ensayos añadir dos gotas (100 λ) de reactivo de Coombs a 1 gota (50 Ml) de hematíes al 3%.
- Centrifugar inmediatamente (estandarice su centrífuga).
- Leer a contraluz macroscópicamente, y microscópicamente si resulta aparentemente negativo.
- Añadir una gota de hematíes testigo para la pueba de Coombs a toda prueba con resultados negativos, centrifugar nuevamente y efectuar la lectura. Esta debe ser francamente positiva.

Prueba Indirecta de Coombs.

- Lavar, al menos una vez los hematíes de la sangre a transfundir si se trata de una prueba cruzada mayor. Para esto tomar una pizca de sangre de la bolsa (trozo de manguera piloto) en un tubo de ensayo, lavar y resuspender al 3-5 %. Si se trata de un rastreo de anticuerpos tratar los hematíes de prueba según las indicaciones del proveedor.
- En un tubo de ensayos mezclar una gota de la suspensión de hematíes con el suero problema.
- Incubar al menos 30 min., preferiblemente 1 hora. El tiempo de incubación puede ser reducido si se emplea solución potenciadora. En tal caso siga las instrucciones del proveedor.
- Lavar 4 veces el botón de hematíes con abundante SS ó PBS.
- Añadir dos gotas (100 λ) de reactivo de Coombs y centrifugar inmediatamente.
- Efectuar la lectura macroscópicamente a contraluz ó microscópicamente si resulta aparentemente negativa.
- Añadir una gota de hematíes testigo para la prueba de Coombs a toda prueba con resultados negativos, centrifugar nuevamente y efectuar la lectura. Esta debe ser francamente positiva.

Principales causas de error:

- “Tubo sucio”: Se inactiva el reactivo de Coombs con restos de suero humano ó suciedad por insuficiente lavado. Es común en algunos laboratorios no enjuagar bien con agua destilada antes del secado del material reutilizable. Lo mejor es el uso de material desechable, siempre que sea posible.
- Insuficiente lavado de los hematíes del paciente en la PDC o de los hematíes de prueba después de la incubación con el suero problema.
- Insuficiente tiempo de incubación de la mezcla suero-hematíes.
- Reacción muy débil frente a anticuerpos o antígenos muy débiles. El botón de hematíes para la lectura debe manipularse con delicadeza.
- Es muy aconsejable el empleo de hematíes ´control de Coombs´ en toda prueba que resulte negativa. Cada estudio debe acompañarse de los correspondientes ensayos positivos y negativos de manera que los resultados puedan ser evaluados correctamente.



1. PRODUCTO: VACUETTE® BLOOD COLLECTION TUBES

2. MARCA: VACUETTE® MiniCollect®

3. FABRICANTES Y ORIGEN:
GREINER BIO-ONE NORTH AMERICA, INC.USA
GREINER BIO-ONE GMHB AUSTRIA

4. REFERENCIAS:
MiniCollect®

5. REGISTRO SANITARIO
Registro Sanitario: 2016DM-0014339
Vigencia: Febrero 25 de 2025
Clasificación de Riesgo: I

6. PROPÓSITO

MiniCollect® para ser usadosjuntos como un sistema. Los Tubos MiniCollect® están diseñados para la recolección, el transporte y el procesamiento de la sangre de la piel-punción de bebés, niños, geriátricos y pacientes de cuidados críticos. Los capilares y embudos se utilizan como dispositivos de transferencia para facilitar la transferencia de sangre desde el sitio de la punción en el tubo MiniCollect®. El tubo portador se utiliza como un adaptador para rotores de centrifugación y / o bastidores analizador sino también para proporcionar un manejo más fácil de los tubos para el usuario. El tubo portador coloreado se va a utilizar en conjunción con suero y suero / tubos de gel para las pruebas de bilirrubina. El sistema debe ser utilizado por profesionales de la salud debidamente capacitados sólo de acuerdo con estas instrucciones.

7. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

tubos MiniCollect® son tubos de bajo volumen de muestra de plástico, no evacuados, no estériles de un volumen nominal predefinido para alcanzar concentraciones de aditivos correctos. Están equipadas con casquillos MiniCollect® Cross-Cut con códigos de colores (ver tabla abajo). Los tubos, las

concentraciones de aditivos y sus tolerancias permitidas, así como la relación de sangre con aditivo, se ajustan a los requisitos y recomendaciones de la internacional Clinical Laboratory Standards estándar (CLSI, antes NCCLS). Aditivo elección depende del método de ensayo analítico seleccionado. El fabricante de los reactivos y / o instrumento de prueba en el que se realiza el examen especificará esto. Las lancetas se ofrecen con diferentes profundidades, dependiendo del flujo de sangre deseado y la edad del paciente y peso.

MiniCollect® Colores y Volúmenes		
Descripción	**Tapa Cross-Cut**	**Volúmen de Llenado**
MiniCollect® Tubos para Suero		
activador del Clot	rojo	0,5 ml
activador del Clot	rojo	1,0 ml
Activador de coagulación y gel	dorado	0,5 ml
Activador de coagulación y gel	dorado	0,8 ml
MiniCollect® Plasma Tubos		
heparina de litio	verde	0,5 ml
heparina de litio	verde	1,0 ml
Heparina de litio y Gel	verde claro	0,8 ml
MiniCollect® Coagulación Tubos (líquido)		
Citrato de sodio 3,2%	azul claro	0,5 ml
Citrato de sodio 3,2%	azul claro	1,0 ml
Citrato de sodio 3,8%	azul claro	1,0 ml
MiniCollect® EDTA Tubos		
K3EDTA	lavanda	0,25 ml
K3EDTA	lavanda	0,5 ml
K3EDTA	lavanda	1,0 ml
K3EDTA	lavanda	0,5 ml
MiniCollect® glucosa Tubos		
Potasio oxalato y fluoruro de sodio	gris	0,25 ml
Potasio oxalato y fluoruro de sodio	gris	0,5 ml
MiniCollect® Aditivo Tubos		
Aditivo	blanco	

MiniCollect® Tubos para Suero
Todos MiniCollect® suero tubos contienen un activador de la coagulación de la sangre que acelera el proceso de coagulación. MiniCollect® suero tubos se utilizan para probar los parámetros de química clínica.

MiniCollect® Tubos para Plasma
El interior de la pared del tubo está recubierta con heparina de litio. La heparina anticoagulante activa antitrombinas, bloqueando así la cascada de la coagulación y la producción de una muestra de sangre / plasma integral en lugar de sangre coagulada más suero. MiniCollect® tubos de plasma se utilizan para probar los parámetros de química clínica. NOTA: No utilice tubos MiniCollect® plasma para TDM, los procedimientos de los bancos de sangre (inhibidor de PCR) o determinaciones de litio (litio puede interferir con el método de determinación).

MiniCollect® Tubos con Gel para Suero / Plasma
MiniCollect® suero y tubos de plasma con Gel contienen una barrera inerte, acrílico en la parte inferior del tubo. La gravedad específica del gel se encuentra entre las células y el suero / plasma. Durante la centrifugación, el gel se mueve hacia arriba para formar una barrera estable entre las células y el suero / plasma. Esta separación permite suero / plasma para ser aspirado directamente desde el tubo de MiniCollect® eliminando la necesidad de transferir el suero / plasma a otro buque. La barrera es también estable durante el transporte. NOTA: No utilice MiniCollect® suero y / o tubos de plasma con gel para TDM, procedimientos de bancos de sangre (inhibidor de PCR) o determinaciones de litio (litio puede interferir con el método de determinación)

MiniCollect® Tubos con EDTA
El interior de la pared del tubo MiniCollect® se recubre con cualquiera de dipotasio EDTA (K2EDTA) o tripotásico EDTA (K3EDTA). El EDTA se une iones de calcio bloqueando así la cascada de coagulación. MiniCollect® EDTA tubos se utilizan para probar los parámetros de hematología.

MiniCollect® Tubos para Glucosa (no disponible en EE.UU.)
Los tubos MiniCollect® de glucosa contienen un anticoagulante y un estabilizador. Los tubos se recubrieron con oxalato de potasio y fluoruro de sodio. Tubos de glucosa son adecuados para el análisis de azúcar en la sangre y el lactato.

MiniCollect® Tubos para Coagulación
MiniCollect® coagulación tubos se llena con una solución tampón de citrato trisódico. La concentración es ya sea 0,109 mol / l (3,2%) o 0,129 mol / l (3,8%). La elección de la concentración depende de la política del laboratorio. MiniCollect® tubos de coagulación se utilizan para las pruebas de coagulación. NOTA: MiniCollect® tubos de coagulación sólo son adecuados para su uso con sangre venosa. Resultados de las pruebas falsificados pueden ocurrir cuando se utiliza sangre capilar debido a la contaminación del fluido del tejido durante los procedimientos de la piel-punzantes.

RECOLECCIÓN Y MANEJO:

ESTA CIRCULAR DEBE SER LEÍDA Y ENTENDIDA ANTES DE REALIZAR LA PUNCIÓN DE PIEL!
Equipo requerido para la recolección de muestras.
Asegúrese de que los siguientes materiales son de fácil acceso antes de realizar la punción de la piel:

- Todos los tubos y accesorios necesarios, identificados por tamaño, volumen de llenado y aditivo.

- Etiquetas para la identificación de muestras de pacientes positivos.
- Los tubos deben utilizarse con lancetas, capilares y / o embudos.
- NOTA: Para el ensayo de bilirrubina, los tubos MiniCollect® deben utilizarse con el tubo Portador de color ámbar.
- Practique precauciones generales de seguridad, uso de guantes y ropa adecuada para la protección contra la exposición a patógenos transmitidos por la sangre.
- Algodón con alcohol para el sitio de limpieza
- Gasa estéril seca
- Se requiere dispositivo de calentamiento, dependiendo del volumen de la sangre y la prueba a realizar
- Yeso adhesivo o vendaje
- Contenedor de desecho para eliminación segura de lancetas, embudos, capilares y accesorios usados.

ORDEN RECOMENDADO PARA EXTRACCIÓN:

Si varias muestras se recogerán, incluyendo muestras de EDTA, la muestra de EDTA debe ser la primera en extraer para asegurar un volumen adecuado y resultados de las pruebas de hematología precisos. Otras muestras de aditivos se recogerán a continuación; las muestras que requieren suero sanguíneo se recogen al final.

TÉCNICA DE PUNCIÓN DE PUNCIÓN DE PIEL Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS:

USAR GUANTES DURANTE LOS PROCEDIMIENTOS DE PUNCIÓN DE PIEL Y AL MANIPULAR LOS TUBOS DE RECOLECCIÓN DE SANGRE PARA MINIMIZAR LA EXPOSICIÓN!
1. Se deben usar guantes durante todo el procedimiento de punción de piel y extracción de sangre.
2. Seleccione el tubo o tubos apropiadamente para las muestras requeridas. Preparar tubos con embudo o capilar antes de la recolección empujando el embudo o el capilar a través de los cortes transversales de la tapa del tubo MiniCollect®. Los capilares están codificados por color de acuerdo al color del tapón del tubo.
NOTA: Para la prueba de bilirrubina, el tubo de suero MiniCollect® debe ser colocado en el tubo portador de color ámbar, para proteger la muestra de la luz.
3. Abra el empaque de las lancetas según las instrucciones.
4. Seleccione el sitio de la punción y caliente de manera apropiada (por ejemplo, una toalla caliente y húmeda a una temperatura no superior a 42 ° C se puede utilizar para cubrir el sitio de tres a cinco minutos); preparar punto de punción con un antiséptico apropiado. Deje que el área se seque al aire, de esta manera se da lugar a la acción antiséptica.
5. Realizar la piel-punción con lanceta de acuerdo con las instrucciones de uso. Después de la piel-punción deseche la lanceta en un recipiente previsto por el laboratorio.
6. La primera gota de sangre se debe limpiar con una gasa, ya que es más probable que contenga exceso de líquidos tisulares esta primera caída.
7. El flujo de sangre desde el sitio de punción se ve reforzada al sostener el sitio de punción hacia abajo y suavemente la aplicar presión intermitente al tejido circundante (o proximal al sitio de punción cuando la sangre se obtiene de un dedo). No debe realizarse fuerte presión repetitiva (ordeño); puede causar hemólisis o contaminación con fluidos del tejido de la muestra y afectar negativamente los resultados de la prueba.
8. Recoger la muestra.

El uso de un embudo: Utilizar el MiniCollect® preparado (ver paso 2) tubo para recoger las gotas de sangre con el principio de flujo por gravedad de la colección. El uso de un movimiento de pala para recoger la sangre de la superficie de la piel debe ser evitado. Después de la recolección de muestras, el embudo debe retirarse con cuidado del tubo y desecharse en un recipiente previsto por el laboratorio. Si se recoge más de un tubo, para cada tubo adicional, use un nuevo embudo.
El uso de un capilar: Utilice el MiniCollect® preparado (ver paso 2) tubo para recoger la gota de sangre. Cuando la punta del tubo capilar toca la gota de sangre, la sangre fluirá en el tubo MiniCollect® a través de la acción capilar. Después de la recolección de muestras, el capilar debe retirarse con cuidado del tubo y desecharse en un recipiente previsto por el laboratorio. Si se recoge más de un tubo, para cada tubo adicional, use un nuevo capilar.
9. Las gotas de sangre se debe permitir que fluya libremente en el embudo y / o capilar y abajo de las paredes del tubo MiniCollect®. Si una gota de sangre se aloja en el interior del embudo y / o capilar, un grifo suave del tubo sobre una superficie dura es suficiente para desalojar en la parte inferior del tubo.

Si la sangre no fluye en tubo o si el flujo sanguíneo cesa antes de recoger una muestra adecuada, se sugieren los siguientes pasos para completar la colección satisfactoria:
a. Masajear suavemente alrededor del sitio de la punción para estimular el flujo de sangre.
Segundo. Si la sangre todavía no fluye, repita el procedimiento en el paso 1.

10. Los tubos deben llenarse con la cantidad adecuada de sangre; sobre-llenado puede resultar en la formación de coágulos, mientras que bajo el llenado puede causar cambios morfológicos en las células debido a un exceso de anticoagulante. Cuando el tubo se llena de acuerdo con la marca de llenado (volumen nominal), retire el embudo utilizado y / o capilar y deseche en un recipiente previsto por el laboratorio. El espécimen se debe mezclar adecuadamente por suavemente invirtiendo el tubo sin necesidad de retirar la tapa. Un golpecito suave a la parte inferior del tubo será asegurar una mezcla apropiada y el rendimiento aditivo. No agite. Ello provoca la formación de espuma y hemólisis. Mezcla insuficiente o tardía en tubos con aditivos puede dar lugar a la agregación plaquetaria, la coagulación y / o resultados incorrectos. El paciente y la muestra de sangre del paciente deben ser identificados positivamente en el momento de la recolección. La muestra debe ser etiquetada inmediatamente después de la recolección y la mezcla. El tubo MiniCollect® puede ser colocado en el tubo portador para la facilidad en el etiquetado y centrifugación.
11. Después de la extracción de sangre, aplique presión en el sitio de la punción con una torunda estéril seco hasta que el sangrado se detenga. (Si se punza el talón del pie infantes debe ser elevada por encima del cuerpo)
12. Una vez que se ha producido la coagulación de aplicar una venda adhesiva, si se desea.
980204 Rev04 02 hasta 2011
13. Después de la recolección de muestras, el rebaje en la tapa puede contener un poco de sangre residual. Tome las debidas precauciones al manipular los tubos para evitar el contacto con esta sangre.

CENTRIFUGACIÓN:
Asegúrese de que los tubos están colocados correctamente en el soporte de la centrífuga, Asientos incompleta podría dar lugar a la separación de la tapa Cross-Cut de MiniCollect® del tubo o la extensión del tubo por encima de la portadora. Se recomiendan tubos MiniCollect® que se centrifugaron a 3.000g (1.600g mínimo, máximo 5.000g) durante un período de 10 minutos en una centrífuga refrigerada. La centrifugación debe hacerse en una temperatura de 15 ° C-24 ° C (25 ° C / 77 ° F). Las temperaturas más altas podrían tener efectos negativos en las propiedades físicas del gel.

NOTA: Los tubos de separación de gel deben ser centrifugados antes de 2 horas después de la recolección. El contacto prolongado de las células de la sangre con el suero o plasma, puede conducir a resultados de análisis erróneos. No se recomienda volver a centrifugar los tubos una vez se ha formado la barrera. La re-centrifugación de tubos puede dar lugar a un posible deterioro de la barrera de gel, haciendo que las partículas de gel se separen y que aparezcan en el suero o plasma.

DISPOSICIÓN

1. Deben considerarse y seguir las directrices generales de higiene y normas legales locales para la eliminación adecuada de material infeccioso.
2. El uso de guantes reduce el riesgo de infección.
3. Los tubos de recolección de sangre contaminados o llenos, deben eliminarse en contenedores de desecho de riesgo biológico adecuados, que pueden ser esterilizados en autoclave e incinerados después.

8. TIEMPO DE VIDA ÚTIL

Dieciocho meses (18)

9. ESTÁNDARES DE CALIDAD DEL FABRICANTE

- ISO 13485
- ISO 14971
- ISO 10993
- ISO 6710
- ISO 18113-2
- ISO 15223-1

HOJA DE INFORMACIÓN TÉCNICA		
BD	**Tubo Microtainer® EDTA K2**	**Becton Dickinson de Colombia** **Sistemas Integrados de Diagnóstico -IDS** **Versión: 2019-I**



DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO:

Tubos para micro recolección de sangre, estériles, plásticos con tapón lila, aditivo K2 EDTA aplicado al cuerpo del tubo por aspersión.

El tubo BD Microtainer® con EDTA K2 se usa para la recolección, anticoagulación, transporte y almacenamiento de muestras de sangre obtenidas por punción capilar para la determinación de los siguientes parámetros hematológicos: leucocitos, eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de hemoglobina corpuscular media, plaquetas, diferencial de leucocitos.

REGISTRO SANITARIO:

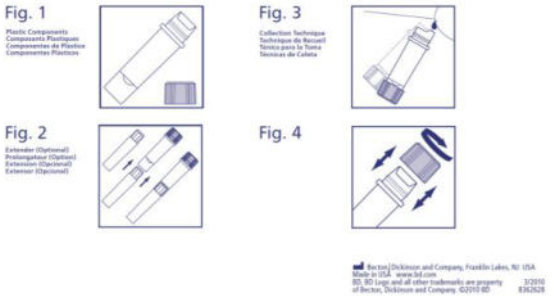
Número: INVIMA 2018DM-0018962	**Clasificación: I**
Vigencia: 10 años	**Tipo de dispositivo:** No Invasivo
Titular: Becton Dickinson de Colombia	**Fabricante:** Becton Dickinson and Company
Dispositivo: No Reutilizable	**Esterilización:** Gamma radiación

ESPECIFICACIONES DEL EMPAQUETADO

CATALOGO	VOLUMEN	PRESENTACION	TAMAÑO DEL TUBO	TAPON DE CIERRE
365974	250 – 500 uL	Caja por 50 Unidades	8 x 45 mm	Microgard™

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

Material del Tubo	Polipropileno (PP)
Material del Tapón	Resina de polietileno de alta densidad (HDPE)
Tipo de Cierre	BD Microgard™ Tapón de seguridad con asistente de giro.
Indicador de Línea de Llenado	Si
Aditivo	Aditivo anticoagulante: K2 EDTA 1,8mg/ml
Almacenamiento	Temperatura: 4- 25^0 C, Humedad relativa de 15- 80% No exponer a luz directa del sol. Posición Vertical
Estándares de Certificación	ISO 13485 – FM79169

MODO DE USO	Descripción de Uso
	1.Se deben usar guantes durante la recolección de la muestra capilar. 2. Seleccione el sitio de la punción, precaliéntelo y límpielo con alcohol. 3.Lave el área con agua y jabón y séquela perfectamente para minimizar el riesgo de contaminación de la superficie de piel. 4.Limpie con una torunda empapada en alcohol. 5. Deje que el sitio de la punción se seque. No frote para secar, ya que la desinfección se produce durante el secado al aire libre. 6. Quite el tapón del tubo y colóquelo en una superficie cercana adecuada El tapón puede colocarse en la parte inferior del tubo (Fig. 3). 7. Puncione la piel con una lanceta apropiada, siguiendo las instrucciones del fabricante. Deseche la lanceta en un contenedor adecuado. Elimine la primera gota de sangre con una gasa. 8. Sostenga el tubo BD Microtainer® en un ángulo de 30° a 45° en relación con la superficie del sitio de punción (Fig. 3). Haga que el extremo de recolección del reservorio toque la gota de sangre. Después de recolectar 2 ó 3 gotas, la sangre fluirá fácilmente por la pared del reservorio hasta el fondo del tubo. 9. Llene el tubo entre las marcas de 250 µL y 500 µL que figuran sobre el reservorio. 10. Vuelva a colocar el tapón, girándolo y presionándolo hasta escuchar un "click". Inmediatamente después de recolectar la muestra, invierta suavemente el tubo un mínimo de 20 veces para mezclarla.

ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras recolectadas con el tubo BD Microtainer® con EDTA K2 ofrecerán resultados de análisis confiables y clínicamente útiles hasta un máximo de 4 horas después de haber sido recolectadas para los parámetros hematológicos indicados anteriormente. Las muestras se pueden conservar en gradillas o en mezcladores continuos durante este tiempo. Lleve las muestras a temperatura ambiente antes del análisis.

Para el plomo, otros analitos u otros métodos de análisis, los usuarios deben confirmar que los resultados del análisis cumplen satisfactoriamente los criterios de su institución sobre valores clínicamente aceptables. El usuario debe consultar al fabricante del instrumento en lo relacionado con la estabilidad esperable de la muestra.

Becton Dickinson - Cota - Cundinamarca – Colombia

Parque Industrial CLIS - Vereda Vuelta Grande a 150 Mts de la Glorieta de Siberia, vía a Cota.

Cota - Cundinamarca – Colombia

tel: 57-1-7566060

www.bd.com

Simultaneous detection of Dengue NS1 Ag & IgG IgM Test

SD BIO LINE Dengue Duo Dengue NS1⊕Ab Combo

Test en une étape pour la détection de l'Antigène NS1 et des anticorps IgG/IgM de la dengue
Detección simultánea de Dengue NS1 y IgG / IgM prueba
Detecção simultânea de Dengue NS1 e IgG / IgM Teste

English

Explanation of the test

[Introduction] Dengue viruses, transmitted by the mosquito, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes, are widely distributed throughout the tropical and subtropical areas of the world. There are four known distinct serotypes (dengue virus 1, 2, 3 and 4). In children, infection is often subclinical or causes a self-limited febrile disease. However, if the patient is infected second times with a different serotype, a more severe disease, dengue hemorrhagic fever or dengue shock syndrome, is more likely to occur. Dengue is considered to be the most important arthropod-borne viral disease due to the human morbidity and mortality it causes. NS1 is a highly-conserved glycoprotein that is present at high concentrations in the sera of dengue-infected patients during the early clinical phase of the disease. NS1 antigen is found from the first day and up to 9 days after onset of fever in sample of primary or secondary dengue infected patients. Usually IgM does not become detectable until 5 to 10 days after the onset of disease in cases of primary dengue infection and until 4 to 5 days after onset of illness in secondary infections. In primary infections, IgG appear the 14th day and persist for life. Secondary infections show that IgGs rise within 1~2 days after the onset of symptoms and induce IgM response after 20 days of infection.

[Intended Use] The SD BIOLINE Dengue Duo rapid test is an *in-vitro* immunochromatographic, one step assay designed to detect both dengue virus NS1 antigen and differential IgG / IgM antibodies to dengue virus in human serum, plasma or whole blood. This SD BIOLINE Dengue Duo rapid test contains two devices (left side ; Dengue NS1 Ag test, right side ; Dengue IgG/IgM test). The Dengue NS1 Ag rapid test in the left side is an in-vitro immunochromatographic, one step assay designed for the qualitative determination of dengue virus NS1 antigen in human serum, plasma or whole blood. It is for the diagnosis of early acute dengue infection. This test device contains a membrane strip, which is pre-coated with anti-dengue NS1 Ag capture on test band region. The anti-dengue NS1 Ag -colloid gold conjugate and serum, plasma or whole blood sample migrate along the membrane strip by capillary action and react with the reagent (?) and forms a visible line on the antibody-antigen-antibody gold particle complex forms. The Dengue IgG / IgM Rapid Test in the right side is a solid phase immunochromatographic assay for the rapid, qualitative and differential detection of IgG and IgM antibodies to dengue virus in human serum, plasma or whole blood. This test is intended for professional use to aid in the presumptive diagnosis between primary and secondary dengue infection. This SD BIOLINE Dengue Duo provides only a preliminary test result. Therefore, isolation of virus, antigen detection in fixed tissues, RT-PCR and serological test like haemagglutination-inhibition test, more specific alternative diagnosis method must be used in order to obtain a confirmation of dengue virus infection.

[Principle] The Dengue NS1 Ag test device result window has 2 pre-coated lines, "I" (NS1 Ag Test Line) and "C" (Control Line). Both the Test Line and the Control Line in result window are not visible before applying any samples. The Control Line is used for procedural control and should always appear if the test procedure is performed correctly. The Dengue NS1 Ag can identify dengue virus NS1 antigen in serum, plasma or whole blood specimens with a high degree of sensitivity and specificity. Dengue IgG / IgM rapid test is designed to simultaneously detect and differenciate IgG and IgM antibodies to dengue virus in human serum, plasma or whole blood. This test also can detect all 4 dengue serotypes by using a mixture of recombinant dengue envelope proteins: Dengue IgG / IgM test device has 3 pre-coated lines, "G" (Dengue IgG Test Line), "M" (Dengue IgM Test Line) and "C" (Control Line) on the surface of the device. All three lines in result window are not visible before applying any samples. The "Control Line" is used for procedural control. Control line should always appear if the test procedure is performed properly and the test reagents of control line are working. A purple "G" and "M" lines will be visible in the result window if there are enough IgG and/or IgM antibodies to Dengue virus in the sample. If IgG and/or IgM antibodies to Dengue virus are not present in the sample, there is no color appearance in "G" and/or "M". When a specimen is added to the sample well, anti-dengue IgG and IgMs in the specimen will react with recombinant dengue virus envelope proteins-colloidal gold conjugates and forms a complex of antibodies-antigen. As this complex migrates along the length of the test device by capillary action, it will be captured by the relevant anti-human IgG and/or anti-human IgM immobilized in two test lines across the test device and generate a colored line.

Materials provided / Active ingredients of main component

1. SD BIOLINE Dengue Duo kit contains the following items to perform the assay.
- Dengue NS1 Ag and Dengue IgG/IgM Combo device
- Assay diluent for Dengue IgG/IgM test
- Sol capillary pipette for Dengue IgG/IgM test
- Disposable dropper for Dengue NS1 Ag test
- Instruction for use
2. Active ingredients of main components
[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]
- 1 test strip included ; Gold Conjugates (as main component) : Mouse monoclonal anti-dengue NS1 – gold colloid (0.27±0.05μg), Test Line (as main component) : Mouse monoclonal antidengue NS1 (0.72±0.14μg), Control Line (as main component) : Goat anti-mouse IgG (0.72±0.14μg)

[SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]
- 1 test strip included ; Gold Conjugates (as main component) : Recombinant Dengue virus envelope protein – gold colloid (1± 0.2 μg), Test Line "G" (as main component) : Mouse monoclonal anti-human IgG (5± 1μg), Test Line "M" (as main component) : Mouse monoclonal anti-human IgM (5± 1μg), Control Line (as main component) : Rabbit anti-Dengue IgG (2.5±0.5μg),
- Assay buffer included ; 100 mM Phosphate buffer (5 ml), Sodium azide (0.01% w/w)

Kit Storage and Stability

1. The SD BIOLINE Dengue Duo test should be stored at 1~30°C.
2. The test strip is sensitive to humidity and as well as to heat.
3. Perform the test immediately after removing the test strip from the foil pouch.
4. Do not use it beyond the expiration.

Precautions / Storage and kit stability

Whole blood
- Collect the whole blood into the collection tube (containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture.
- If blood specimens are not immediately tested, they should be refrigerated at 2~8°C.
- When stored at 2~8°C, the blood specimens should be used within 3 days.
- For storage period longer than 3 days, freezing is recommended. They should be brought to room temperature (15~30°C) prior to test.
- Using the blood specimens in the long-term keeping more than 3 days can cause non-specific reaction.

Plasma or Serum
- **[Plasma]** Collect the whole blood into the collection tube (containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture and then centrifuge blood to get plasma specimen.
[Serum] Collect the whole blood into the collection tube (NOT containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture, leave to settle for 30 minutes for blood coagulation and then centrifuge blood to get serum specimen of supernatant.
- If plasma or serum specimens are not tested immediately, they should be refrigerated at 2~8°C. For storage period longer than 2 weeks, freezing is recommended. They should be brought to room temperature (15~30°C) prior to use.
- Plasma or serum specimens containing a precipitate may yield inconsistent test results. Such specimens must be clarified prior to assaying.

Precaution
- Anticoagulants such as heparin, EDTA, and citrate do not affect the test result.
- As known relevant interference, hemolytic samples, rheumatoid factors-contained samples and lipaemic, icteric samples can lead to impair the test results.
- Use separately disposable capillary pipettes or pipette tips for each sample in order to avoid cross-contamination of either samples which could cause erroneous results.

Warnings

1. For *in vitro* diagnostic use only. DO NOT RE-USE test device.
2. Do not eat or smoke while handling specimens.
3. Wear protective gloves while handling specimens. Wash hands thoroughly afterwards.
4. Avoid splashing or aerosol formation.
5. Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
6. Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials, as if they were infectious waste, in a biohazard container.
7. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.
8. The instruction must be followed exactly to get accurate results.

Procedure of the test (Refer to figure of Test Procedure)

[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]
1. Remove the test device from the foil pouch, and place it on a flat, dry surface.
2. With a disposable dropper, add 3 drops (about 100μl) of specimen into the sample well (S).
3. As the test begins to work, you will see purple color move across the result window in the center of the test device.
4. Interpret test results at 15~20 minutes.
5. A positive result will not change once it has been established at 15 ~ 20 minutes. However, in order to prevent any incorrect results, the test result should not be interpreted after 20 minutes.

[SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]
1. Allow all kit components and specimen to room temperature prior to testing.
2. Remove the test device from foil pouch, place it on a flat, dry surface.
3. With 10μl capillary pipette, add 10μl of specimen drawn to black line into the square sample well marked "S".
4. Add 4 drops (about 90~120μl) of assay diluent to the assay diluent well round shaped.
5. Interpret test results at 15~20 minutes.
Caution : Do not read test results after 20 minutes. Reading too late can give false results.

Interpretation of the test (Refer to figure)

[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]
- **Negative Result :** The presence of each one color line within the result window indicates a negative result.
- **Positive result :** The presence of two color lines ("I" band and "C" band) within the result window no matter which line appears first, indicates a positive result.
- **Invalid Result :** If the color line is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. The directions may not have been followed correctly or the test may have deteriorated. It is recommended that the specimen be re-tested.

[SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]
- **Negative :** The control line is only visible on the test device. No IgG and IgM antibodies were detected. Retest in 5-7 days if dengue infection is suspected.
- **IgM Positive :** The control line (C) and IgM line (M) are visible on the test device. This is positive for IgM antibodies to Dengue virus. This is indicative of a primary dengue infection.
- **IgG Positive :** The control line and IgG line (G) are visible on the test device. This is positive for IgG antibodies. This is indicative of secondary or past dengue infection.
- **IgG and IgM Positive :** The control line, IgM (M) and IgG line (G) are visible on the test device. This is positive for both IgM and IgG antibodies. This is indicative of a late primary or early secondary dengue infection.
- **Invalid :** The control line fails to appear. Insufficient specimen volume or incorrect procedural techniques are the most likely reasons for control line failure. Repeat the test using a new test device.

Limitations of the test

1. A negative result can occur if the quantity of Dengue virus NS1 antigen present in the specimen is below the detection limits of the assay, or the antigens that are detected are not present during the stage of disease in which a sample is collected.
2. A negative test result cannot exclude a recent infection.
3. The presence of detectable Dengue virus NS1 Ag may mean positive for early Dengue Infection. As with all diagnostic tests, all results must be considered with other clinical information available to the physician.
4. In early infections and some secondary infections, detectable levels of IgM antibodies may be low. Some patients may not produce detectable levels of antibody within the first seven to ten days after infection. Where symptoms persist, patients should be re-tested 3-4 days after the first species.
5. Serological cross-reactivity across the Flavivirus group (Dengue virus, St. Louis encephalitis, Japanese encephalitis, West Nile and yellow fever virus) is common.

Internal Quality Control

The SD BIOLINE Dengue NS1 Ag test device has "Test Line" and "Control Line" on the surface of the cassette. And the SD BIOLINE Dengue IgG / IgM test device has "G(Dengue IgG Test Line)", "M(Dengue IgM Test Line)" and "C(Control Line)". All the Test Lines and Control Lines in result window are not visible before applying any samples. The Control Line is used for procedural control.Control line will appear if the test reagents of control line are working and assay diluent has been applied properly. Control line does not guarantee that the sample has been applied properly, or that the sample was correctly stored particularly if it was a whole blood sample.

Expected value

The NS1 is expected to be detected 1 day after the onset of fever and persist up to 9 days in both primary and secondary dengue infection. But if anti-NS1 antibodies produced, the detection of NS1 is inhibited. Primary dengue is characterized by the presence of detectable IgM 3-5 days after the onset of infection. Secondary dengue is characterized by the elevation of specific IgG 1-2 days after the onset of infection and in the majority of cases this is generally accompanied by an elevation of IgM.

Product Disclaimer:
Whilst every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the Manufacturer and Distributor and the result may accordingly be affected by environmental factors and / or user error. A person who is the subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the result.

Warning:
The Manufacturers and Distributors of this product shall not be liable for any losses, liability, claims, costs or damages whether direct or indirect or consequential arising out of or related to an incorrect diagnosis, whether positive or negative, in the use of this product.

Date Issued : 2011. 09
11FK45-En-1

Performance Characteristics

1. Dengue NS1 Ag Sensitivity and Specificity
The specimens used in this test were confirmed by RT-PCR and/or Viral culture.

		RT-PCR and/or Viral culture		Total
		Positive	Negative	
SD Dengue NS1 Ag	Positive	104	3	107
	Negative	8	186	194
	Total	112	189	301

* Sensitivity = 104/112 x 100 = 92.8 %, Specificity = 186/189 x 100 = 98.4 %

2. Dengue IgG/IgM Sensitivity and specificity
The comparison results of SD BIOLINE Dengue IgG/IgM test with Haemagglutination inhibition (HI) test showed that SD BIOLINE Dengue IgG/IgM test had good correlation with HI test.

		Reference assay : HI test		Total
		Positive	Negative	
SD Dengue IgG/IgM	Positive	159	3	162
	Negative	1	39	40
	Total	160	42	202

* Sensitivity = 159/160 x 100 = 99.4 %, Specificity = 39/42 x 100 = 93 %

Technique used	No. of samples teste	IgM positive only	IgG positive only	IgG+IgM Both positive	Total IgM positive	Total IgG positive	Negative
MAC-ELISA	202	39	45	76	115	121	42
Commercial Rapid	202	41	88	32	73	120	41
SD Dengue IgG/IgM	202	33	21	108	141	129	40

3. Sensitivity of SD Dengue Duo related to clinical signs appriation

Days after symptom onset	No. of samples	No. of positive samples (%)				
		IgG antibody	IgM antibody	Total Antibody(*1)	NS1 Ag	Final Result(*2)
1st	1~7	52	9 (17.3)	21 (40.4)	23 (44.2)	43 (82.7)	49 (94.3)
	8~14	30	26 (86.7)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	30 (100)
	15~21	36	35 (97.2)	36 (100)	36 (100)	5 (13.9)	36 (100)
2nd	1~7	36	24 (66.7)	8 (22.2)	24 (66.7)	24 (66.7)	32 (88.9)
	8~14	34	34 (100)	18 (53)	34 (100)	14 (41.2)	34 (100)
	15~21	42	42 (100)	24 (57.2)	42 (100)	3 (7.2)	42 (100)

* 1 : Dengue IgG and/or IgM * 2 : Dengue NS1 and/or IgG&IgM antibody
4. Cross-reactivity test with other Flavivirus mediated and mosquitoes-borne disease

Disease	Dengue IgM Negative/Total	Dengue IgG Negative/Total	Dengue NS1 Ag Negative/Total
Japanese Encephalitis	25/25	25/25	25/25
Yellow Fever	25/25	25/25	25/25
Malaria *P. falciparum*	25/25	25/25	25/25
Malaria *P. vivax*	25/25	25/25	25/25
Total	100/100	100/100	100/100

5. Precision : Within-run and between-run precisions have been determined by the testing of ten specimens three times : 6 of negative, 3 of low positive, 3 of medium positive and 3 of strong positive. All values were collectly identified 100% of the time.
6. To evaluate the interference of Dengue Duo rapid kit with known relevant interfering specimens, the hemolytic samples, rheumatoid factorscontained samples and lipaemic, icteric samples were investigated. In these studies, those specimens did not interfere with this test kit.
7. Analytical sensitivity : the limit of detection ; the smallest amount of the target marker that can be precisely detected ; have been equal or superior to a leading commercial dengue NS1 Ag and antibody detection rapid test.

Français

Explication du test

Les virus de la dengue, transmis par le moustique, *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* sont très répandus dans les régions tropicales et subtropicales du monde. Il existe quatre sérotypes distincts connus (virus de la dengue 1, 2, 3 et 4). Chez les enfants, l'infection est souvent subclinique ou est responsable d'un état fébrile bouteilo, si le patient est infecté une seconde fois avec un sérotype différent, les manifestations cliniques plus graves comme la dengue hémorragique ou un syndrome de choc, peuvent apparaître La dengue est considérée comme la plus importante des maladies virales transmises par les arthropodes en raison de la morbidité et de mortalité qu'elle provoque NS1 est une glycoprotéine hautement conservée présente à des concentrations élevées dans le sérum de patients infectés par la dengue au cours de la phase clinique au stade précoce de la maladie. Au cours d'une infection primaire ou secondaire de la dengue, l'antigène NS1 est retrouvé dans les prélèvements de la première jour et persiste jusqu'à 9 jours après le début de la fièvre. Le délai de détection des IgM est habituellement de 5 à 10 jours après l'apparition de la maladie au cours d'une primo-infection et 4 à 5 jours après l'apparition de la maladie au cours des réinfections Dans les primo-infections, les IgG apparaissent le 14e jour et persistent toute la vie. Au cours des réinfections, les IgG apparaissent 1 ~ 2 jours après l'apparition des symptômes et les IgM apparaissent 20 jours après l'infection.

[But] Le test rapide SD BIOLINE Dengue Duo est un test d'immuno-chromatographie *in vitro* en une étape qui détecte l'antigène NS1 et les anticorps IgG /IgM du virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Le test SD BIOLINE Dengue Duo est composé de 2 cassettes : la cassette de gauche pour la détection de l'antigène NS1 et la cassette de droite pour la détection des anticorps IgG / IgM. Le test rapide de détection de l'Antigène NS1de la dengue est un test d'immuno- chromatographie in vitro, en une étape de détection qualitative de l'antigène NS1 du virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total pour le diagnostic précoce de la dengue aiguë. La cassette du test contient une membrane, qui est pré- enduites ou sensibilisée par l'anticorps de capture anti-NS1 de dengue sur la zone de test. Le conjugué colloïde or d'anticorps anti- NS1 de Dengue et le sérum, le plasma ou l'échantillon de sang total vont vers et déplacer ensemble par chromatographie sur la membrane vers la zone de test (T) et forment un complexe coloré anticorps-antigènes-anticorps visible sur la fenêtre (T) de résultat. Le test rapide de la dengue IgG / IgM sur le côté droit est un test d'immuno-chromatographie en phase solide pour la détection rapide, qualitative et différentielle des anticorps IgG et IgM du virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total humain Ce test est destiné à un usage professionnel pour aider au diagnostic présomptif entre une primo-infection et une réinfection de la dengue. Le test SD BIOLINE Dengue Duo ne donne qu'un seul résultat préliminaire. Par conséquent, l'isolement du virus, la détection de l'antigène en tissus fixés, la RT-PCR et les tests sérologiques comme les méthodes d'inhibition de l'hémagglutination, doivent être utilisées pour la confirmation de l'infection au virus de la dengue.

[Principe] La cassette du test Antigène NS1 de la dengue possède une fenêtre de résultat avec deux pré-enduites, "I" (ligne de test NS1) et "C" (ligne de contrôle). La ligne de test et la ligne de contrôle dans la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant le dépôt de tout échantillon La ligne de contrôle est utilisée pour le contrôle de la procédure et doit toujours apparaître si la procédure du test est effectuée correctement. Le test Antigène NS1 peut identifier les antigènes NS1 du virus de la dengue dans du sérum, le plasma ou le sang total avec un degré élevé de sensibilité et de spécificité. Le test rapide de détection des IgG / IgM de la dengue est conçu pour détecter simultanément et d'une façon différentielle, les anticorps IgG et IgM du virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total. Ce test peut également détecter les 4 sérotypes de dengue en utilisant un mélange de protéines recombinantes d'enveloppe de la dengue. La cassette du test Dengue IgG / IgM a 3 lignes pré-enduites, "G" (ligne de test IgG), "M" (ligne de test IgM) et "C" (ligne de contrôle) sur sa surface . Toutes ces trois lignes dans la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant le dépôt de tout échantillon. La "ligne de contrôle" est utilisée pour le contrôle de la procédure. La ligne de contrôle doit toujours apparaître si la procédure du test est effectuée correctement et que les réactifs du test de la ligne de contrôle fonctionnent. Des lignes pourpres (ou roses) "G" et "M" seront visibles dans la fenêtre de résultat s'il y a assez d'anticorps IgG et / ou IgM du virus de la dengue dans l'échantillon. Si les anticorps IgG et / ou IgM du virus de la dengue ne sont pas présents dans l'échantillon, aucune coloration n'apparaît sur les lignes "G" et / ou "M". Lorsqu'un échantillon est déposé dans le puits positif, l'effet des anticorps IgG et IgM anti-dengue sur les réactifs de l'échantillon réagissent avec les protéines recombinantes d'enveloppe du virus de la dengue présentes dans le conjugué colloïde -or pour former un complexe anticorps-antigène. Ce complexe migre par capillarité sur la membrane et sera capturé par les anticorps anti-IgG humains spécifiques et / ou anti-IgM humains immobilisé au niveau des deux lignes du test G et M sur la cassette et générè ainsi une ligne colorée.

Matériels fournis / les composants majeurs du réactif

1. SD BIOLINE Dengue Duo kit contient les éléments suivants pour réaliser le test.
- Dispositif combo de Dengue NS1 Ag et Dengue IgG / IgM.
- diluant pour le test de Dengue IgG / IgM
- Tube capillaire de 10μg pour le test Dengue IgG / IgM
- Compte-gouttes à usage unique pour le test Dengue NS1 Ag
- Notice d'utilisation
2. Les composants du réactif
[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]
- 1 bandelette de test inclut ; conjugué-or : colloïde d'anticorps monoclonaux de souris anti-NS1 de dengue (0,27 ± 0,05μg), ligne de test: anticorps monoclonaux de souris anti- NS1 (0,72 ± 0,14 μg), Ligne de contrôle: anticorps de chèvre anti- IgG de souris (0,72 ± 0,14 μg)

[SD BIOLINE IgG/IgM de Dengue]
- 1 bandelette de test inclut; conjugué-or: colloïde d'or de protéines recombinantes d'enveloppe du virus de Dengue (1 ± 0,2 μg), Test Line "G": anticorps monoclonaux de souris anti- IgG humain (5 ± 1 μg), Test Line "M": anticorps monoclonaux de souris anti- IgG humain (5 ± 1 μg), ligne de contrôle: anticorps de lapin anti-IgG de dengue (2,5 ± 0,5 μg),
- Tampon du test composé de : 100 mM tampon phosphate (5 ml), azide de sodium (0,01% p / v)

Conservation et stabilité du kit

1. Le test SD BIOLINE Dengue Duo doit être conservé à 1~30°C.
2. La bandelette du test est sensible à l'humidité et à la chaleur.
3. Effectuer le test immédiatement après avoir retiré la cassette de son emballage.
4. Ne pas l'utiliser au-delà de la date d'expiration.

Prélèvement des échantillons, conservation et Précaution

Sang total
- Prélever le sang total dans un tube (contenant un anticoagulant comme l'héparine, l'EDTA ou citrate de sodium) par ponction veineuse.
- Si les échantillons de sang total ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés à 2 ~ 8°C.
- Lorsqu'ils sont stockés à 2 ~ 8 °C, les échantillons de sang total doivent être utilisés dans les 3 jours.
- Pour les délais de conservation de plus de 3 jours, il est recommandé de congeler les échantillons. Avant utilisation, ces échantillons doivent être ramenés à température ambiante (15 ~ 30°C).
- L'utilisation des échantillons de sang total de plus de 3 jours peut provoquer une réaction non spécifique.

Plasma ou sérum
- **[Plasma]** Prélever le sang total dans un tube (contenant un anticoagulant comme l'héparine, l'EDTA et citrate de sodium) par ponction veineuse, puis centrifuger pour obtenir un échantillon de plasma.
[sérum] Prélever le sang total dans un tube sec (sans anticoagulant) par ponction veineuse, laisser décanter pendant 30 minutes, centrifuger et recueillir le surnageant qui est le sérum.
- Si les échantillons de plasma ou de sérum ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés entre 2 ~ 8 °C. Pour la période de conservation de plus de 2 semaines, il est recommandé de congeler les échantillons. Avant utilisation, ces échantillons doivent être ramenés à température ambiante (15 ~ 30°C).
- Les échantillons de plasma ou de sérum contenant des précipités peuvent donner des résultats incohérents. Ces échantillons doivent être clarifiés avant d'être testés.

Précaution
- Les anticoagulants comme l'héparine, EDTA, et citrate n'affectent pas le résultat du test.
- Comme il a été précédemment démontré, l'utilisation des échantillons hémolysés, lipémiques, ictériques ou contenant des facteurs rhumatoïdes peuvent influencer les résultats.
- Utilisez des tubes capillaires jetables ou les embouts de pipettes pour chaque échantillon afin d'éviter la contamination croisée des échantillons qui pourraient entraîner des résultats erronés.

Mise en garde

1. Pour usage diagnostique *in vitro* uniquement. Ne pas réutiliser la cassette du test.
2. Ne pas manger ou fumer pendant la manipulation des échantillons
3. Porter des gants pendant la manipulation des échantillons. Se laver les mains après la manipulation.
4. Éviter les éclaboussures ou la formation d'aérosols.
5. Nettoyer les éclaboussures avec un désinfectant approprié
6. Traiter les éléments suivants, kit de réactifs et les matériels susceptibles d'avoir été contaminés comme des déchets biologiques dangereux. Les décontaminer et les jeter dans des conteneurs pour produits à risque biologique.
7. Ne pas utiliser le kit si le sachet est endommagé ou s'il est pas scellé.
8. La procédure de réalisation du test doit être correctement suivie pour obtenir des résultats corrects.

Procédure d'utilisation du test (Voir la figure de procédure du test)

[SD Dengue NS1 Ag BIOLINE]
1. Retirez la cassette du test de son emballage, et le placez sur une surface plane et sèche.
2. Avec un compte-goutte jetable, ajoutez 3 gouttes (environ 100 μl) de l'échantillon dans le puits échantillon (S).
3. Lorsque le test commence à fonctionner, vous verrez une couleur pourpre (ou rose) traverser la fenêtre de résultat de la cassette.
4. Interprétez les résultats entre 15 ~ 20 minutes.
5. Un résultat positif se forme entre 15 ~ 20 minutes. Toutefois, afin d'éviter des résultats incorrects, le résultat du test ne devrait pas être interprété après 20 minutes.

[SD BIOLINE Dengue IgG/IgM]
1. Ramener tous les composants du kit et les échantillons à température ambiante avant de commencer la manipulation.
2. Sortir la cassette de son emballage et la poser sur une surface plane et sèche.
3. Avec un tube capillaire de 10 μl, ajouter 10 μl de l'échantillon correspondant à la ligne noire du tube capillaire, dans le puits carré réservé pour l'échantillon marqué "S".
4. Ajouter 4 gouttes (environ 90 ~ 120 μl) de diluant du test dans le puits rond correspondant au puits du diluant.
5. Interpréter les résultats : 15 ~ 20 minutes.
Attention: Ne pas lire les résultats du test après 20 minutes. Une lecture tardive peut donner de faux résultats.

Interprétation des résultats du test (Voir la figure d'interprétation)

[SD Dengue NS1 BIOLINE]
- **Résultat négatif :** La présence d'une seule ligne colorée dans la fenêtre de résultat indique un résultat négatif.
- **Résultat positif :** La présence de deux lignes colorées (bande "I" et bande C) dans la fenêtre de résultat, peu importe la ligne qui apparaît la première, indique un résultat positif.
- **Résultat non valide :** Si la ligne colorée correspondant à la bande contrôle C, n'est pas visible dans la fenêtre de résultat après avoir effectué le test, le résultat est invalide. Les procédures peuvent ne pas avoir été correctement suivies ou le test peut être détérioré. Il est recommandé que l'échantillon soit testé de nouveau.

[SD BIOLINE Dengue IgG/ IgM]
- **Résultat Négatif :** Seule la ligne de contrôle est visible sur la cassette. Aucun anticorps IgG ou IgM n'a été détecté. Refaire le test dans 5-7 jours s'il y a suspicion d'une infection par les virus de la dengue
- **Résultat positif pour les IgM :** La ligne de contrôle (C) et la ligne IgM (M) sont visibles sur la cassette du test. La positivité IgG signifie une infection au virus de la dengue.
- **Résultat positif pour les IgG et IgM :** La ligne de contrôle (C), les lignes IgM (M) et IgG (G) sont visibles sur la cassette du test. La positivité des anticorps IgM et IgG signifie une primo-infection à sa phase tardive ou le début d'une réinfection de la dengue.
- **Résultat invalide :** La ligne de contrôle (C), n'apparaît pas. Les raisons les fréquentes d'un tel résultat sont : volume d'échantillon insuffisant ou non respect de la procédure de réalisation du test. Répétez le test avec une cassette.

Limites du test

1. On peut obtenir un résultat négatif si la quantité de l'antigène NS1 du virus de la Dengue présent dans l'échantillon est inférieure aux limites de détection du test, ou le patient ne souffre pas de la dengue.
2. Un résultat négatif ne peut exclure une infection récente.
3. La détection de l'Ag NS1 du virus de la Dengue peut signifier une dengue au stade précoce. Comme pour tous les tests de diagnostic, tous les résultats doivent être confrontés avec des renseignements cliniques à la disposition du médecin
4. Dans les infections au stade précoce et les réinfections, le niveau d'anticorps IgM peut être bas et donc indétectable. Chez certains patients, le niveau des anticorps reste indétectable dans les 7 à 10 premiers jours après l'infection. Si les symptômes persistent, les patients doivent être testés de nouveau 3-4 jours après le premier échantillon.
5. Les réactions sérologiques croisées avec les autres Flavivirus (virus de l'encéphalite de Saint-Louis, l'encéphalite japonaise, virus West Nile et le virus de la fièvre jaune) sont fréquentes.

Contrôle interne de qualité

La cassette du test SD BIOLINE Dengue NS1 Ag possède "une ligne de Test " et "une ligne de contrôle» sur sa surface. Et la cassette du test SD BIOLINE Dengue IgG / IgM possède des lignes "G (ligne de test IgG Dengue)" ; "M (ligne de test IgM dengue)"et "C (ligne de contrôle)". Toutes les lignes de test et de contrôle dans la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant le dépôt de tout échantillon. La ligne de contrôle est utilisée pour le contrôle de la procédure. Une couleur mauve violet apparaît sur la bande de contrôle si le test fonctionne correctement et si le diluant a été appliqué correctement en cas de l'utilisation du sang total. Mais la bande de contrôle ne garantit pas que si l'échantillon a été appliqué correctement ou si l'échantillon a été conservé de manière correct, particulièrement en cas d'une échantillon de sang total.

La valeur attendue

Le NS1 peut être détecté 1 jour après l'apparition de la fièvre et persistent jusqu'à 9 jours dans les deux cas de dengue primaire et secondaire. Mais si des anticorps anti-NS1 sont produits, la détection de NS1 est inhibée. La primo-infection de dengue est caractérisée par la présence d'IgM détectables 3-5 jours après le début de l'infection. La dengue secondaire est caractérisée par l'élévation des IgG spécifiques 1-2 jours après le début de l'infection et dans la majorité des cas, cela est généralement accompagné par une élévation des IgM.

Clause de non responsabilité :
Bien que toutes les précautions soient prises pour assurer le fonctionnement et la précision du diagnostic de ce produit, il n'est pas utilisé sous le contrôle du Fabricant et du Distributeur. Le résultat peut donc être affecté par des facteurs environnementaux et/ou une erreur d'utilisation. Il est fortement recommandé de consulter un médecin pour confirmer le résultat du test.

Attention :
Les Fabricants et Distributeurs de ce produit ne sont en aucun cas responsables des pertes, responsabilité, revendications, coût ou dommages, directs ou indirects, consécutifs ou reliés à un diagnostic erroné, positif ou négatif, lors de l'utilisation de ce produit.

Date Issued : 2011. 09
11FK45-Fr-0

Caractéristiques de performance

1. Sensibilité et spécificité de Dengue NS1 Ag
Les échantillons utilisés cette évaluation ont été confirmés par RT-PCR et / ou culture virale.

		RT-PCR et / ou la culture virale		Total
		Positive	Négative	
Dengue NS1 Ag SD	Positive	104	3	107
	Négative	8	186	194
	Total	112	189	301

*Sensibilité = 104/112 x 100 = 92,8% Spécificité = 186/189 x 100 = 98,4%

2. Sensibilité et spécificité de Dengue IgG / IgM
Les résultats de la comparaison des tests SD BIOLINE Dengue IgG / IgM avec le test d'inhibition de l'hémagglutination (IH) ont montré que SD BIOLINE Dengue IgG / IgM avaient une bonne corrélation avec le test IH.

		Test de référence: le test IH		Total
		Positive	Négative	
IgG Dengue SD / IgM	Positive	159	3	162
	Négative	1	39	40
	Total	160	42	202

* Sensitivity = 159/160 x 100 = 99.4 %, Specificity = 39/42 x 100 = 93 %

Technique utilisée	Nombre d'échantillons testés	échantillons positifs uniquement aux IgM	échantillons positifs uniquement aux IgG	échantillons positifs IgG + IgM	Total IgM positif	Total IgG positif	Négatifs
MAC-ELISA	202	39	45	76	115	121	42
Commercial Rapid	202	41	88	32	73	120	41
SD Dengue IgG/IgM	202	33	21	108	141	129	40

3. Sensibilité des SD Dengue Duo liés à l' apparition des signes cliniques

Quelques jours après l'apparition des symptômes	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons positifs (%)				
		Anticorps IgG	Anticorps IgM	Anticorps Total (*1)	NS1 Ag	Résultat final (*2)
1ère	1~7	52	9 (17.3)	21 (40.4)	23 (44.2)	43 (82.7)	49 (94.3)
	8~14	30	26 (86.7)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	30 (100)
	15~21	36	35 (97.2)	36 (100)	36 (100)	5 (13.9)	36 (100)
2ème	1~7	36	24 (66.7)	8 (22.2)	24 (66.7)	24 (66.7)	32 (88.9)
	8~14	34	34 (100)	18 (53)	34 (100)	14 (41.2)	34 (100)
	15~21	42	42 (100)	24 (57.2)	42 (100)	3 (7.2)	42 (100)

* 1 : Dengue IgG et / ou IgM Dengue NS1 et / ou anticorps IgG et IgM
4. Test de la réaction croisée avec d'autres maladies à Flavivirus et les maladies transmises par les moustiques

Maladie	Dengue IgM Négatif / Total	Dengue IgG négatif / Total	Dengue NS1 Ag Négatif / Total
L'encéphalite japonaise	25/25	25/25	25/25
La fièvre jaune	25/25	25/25	25/25
Le paludisme à *P. falciparum*	25/25	25/25	25/25
Le paludisme à *P. vivax*	25/25	25/25	25/25
Total	100/100	100/100	100/100

5. Précision: La reproductibilité intra-test et inter-test a été déterminée en utilisant 10 fois trois échantillons différents: 6 négatifs, 3 faibles positifs, 3 positifs moyens et 3 positifs forts. Toutes les valeurs ont été correctement identifiées dans 100% de cas.
6. Pour évaluer l'interférence de la Dengue Duo kit rapide avec des échantillons contenant des substances d'interférence connue, les échantillons hémolytiques, échantillons contenant des facteurs rhumatoïdes, échantillons lipémiques, ictériques ont été étudiés. Les résultats de ces échantillons ne montrent aucune interférence avec ce kit
7. Sensibilité analytique: La limite de détection; la plus petite quantité d'Ag NS1 et des anticorps IgG et IgM pouvant être détectée avec précision a été égale ou supérieure à celle d'autres tests commerciaux.

Español

Explicación de la prueba

Los virus del d

Simultaneous detection of Dengue NS1 Ag & IgG IgM Test

SD BIO LINE Dengue Duo
Dengue NS1 ⊕ Ab Combo

Test Procedure
Procédure du Test Rapide
Procedimiento de Prueba Rápida
Procedimento do Teste Rápido

1

EN Now, open the package and look for the following;
1. Test device individually foil pouched with a desiccant
2. Assay diluent
3. Instructions for use
4. Capillary Pipette 10µl
5. Disposable dropper

FR Ouvrir le kit et vérifier les éléments suivants:
1. La plaque de test Dans son enveloppe Protectrice puis le déshumidificateur
2. Diluent
3. manuel d'utilisationrt
4. Pipette capillaire 10µl
5. Goutteur jetable

ES Ahora, abra el empaque y busque a continuación:
1. Dispositivo de prueba en sobre de aluminio individual con desecante
2. Diluyente del ensayo
3. Instrucciones para el uso
4. Pipeta capilar de 10µl
5. Gotero desechable

PT Abra a embalagem e observe abaixo:
1. Teste em card individualmente embalado com dessecante
2. Diluente de ensaio
3. Instruções de uso
4. Pipeta capilar de 10µl
5. Conta-gotas descartável

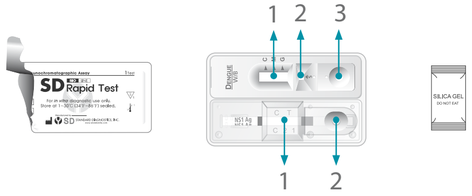


EN Open the foil pouch and look for the following.
1. Result window
2. Sample well
3. Assay diluent well

FR Open the foil pouch and look for the following.
1. Fenêtre de résultat
2. Puits d'échantillon (rond)
3. Puits pour le diluant (carré)

ES Abra el empaque de aluminio y busque lo siguiente:
1. Ventana de Resultados
2. Pozo de muestra
3. diluyente del ensayo

PT Abra o envelope e observe
1. Janela de resultado
2. Janela de amostra
3. diluente de amostra



2

EN FIRST, read carefully the instruction on how to use the SD BIOLINE Dengue Duo test kit.

FR Lire attentivement la notice du kit de SD BIOLINE Malaria Ag Pf/Pv.

ES PRIMERO, Lea cuidadosamente las instrucciones sobre cómo usar el kit de prueba SD BIOLINE Dengue Duo.

PT Primeiramente leia cuidadosamente as instruções de como usar o teste SD BIOLINE Dengue Duo.

3

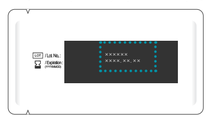
EN Next, look at the expiry date at the back of the foil pouch. Use another kit, if expiry date has passed.

FR Vérifier la date de péremption au verso de l'enveloppe protectrice. Utiliser un autre kit si la date de péremption est dépassée.

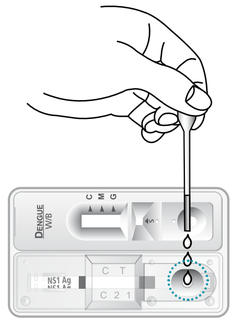
ES Luego, verifique la fecha de vencimiento en la parte posterior de la bolsa de aluminio. Use otro kit, si la fecha ha expirado.

PT Observe a data de validade atrás do envelope. Use outro kit caso a data de validade já tenha se passado.

[For example / Por ejemplo / Par exemple]



4



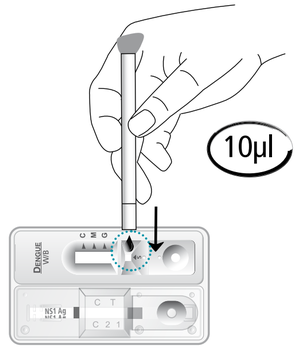
EN Using disposable dropper provided, add 3 drops (about 100µl) of serum, plasma or whole blood into the sample well marked "S".

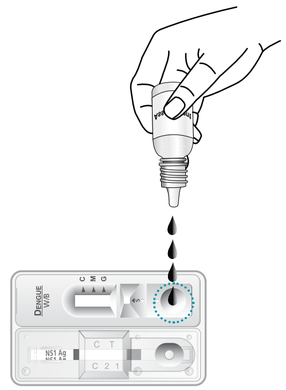
FR Utiliser un compte-goutte jetable, ajoutez 3 gouttes (environ 100µl) de sérum, de plasma ou de sang total dans le puits à échantillon marqué "S".

ES Con un gotero desechable, aada 3 gotas (cerca de 100µl) de muestra en el pozo de muestra (S).

PT Utilizando o conta-gotas descartvel, adicionar 3 gotas (cerca de 100µl) da amostra no poo de amostras (S).

Or





EN Using capillary pipette provided, add 10µl of serum, plasma or whole blood into the sample well marked "S".

FR Utiliser le tube capillaire fourni, déposer 10µl de sérum, de plasma ou de sang total dans le puits à échantillon marquée "S".

ES Con una pipeta capilar de 10µl, aada 10µl de la muestra de suero, plasma o sangre total en la lnea negra dibujada dentro del pozo de muestra cuadrado marcado con S

PT Com a pipeta capilar de 10µl adicionar 10µl de amostra de soro, plasma ou sangue total aspirada at a linha negra dentro do quadrado do poo de amostra marcado S.

EN Put 4 drops of assay diluent into the assay diluent well round shaped.

FR Mettre 4 gouttes de diluant de test dans le puits de diluant du test de forme ronde.

ES Aada 4 gotas (cerca de 90-120µl) del diluyente del ensayo en el pozo de forma redonda.

PT Adicionar 4 gotas (cerca de 90 a 120µl) de diluente da amostra no poo de diluente de amostra de formato redondo.

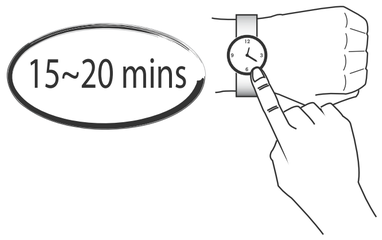
5

EN Interpret test results in 15~20 minutes.

FR Interpréter les résultats dans 15 ~ 20 minutes

ES Interprete los resultados de la prueba a los 15-20 minutos.

PT Interpretar os resultados do teste em 15-20 minutos.

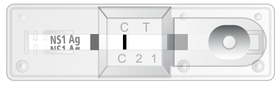


Interpretation / Interprétation / Interpretación / Interpretação

How to interpret test results. / Comment interpréter les résultats du test.
Cómo interpretar los resultados. / Forma de interpretar os resultados dos testes.

Dengue NS1 Ag

Negative / Negatif / Negativo



EN The presence of only one color line within the result window indicates a negative result.

FR La présence d'une seule ligne colorée dans la fenêtre de résultat indique un résultat négatif.

ES La presencia de una línea de color dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.

PT A presena de qualquer uma linha colorida dentro da janela de resultados indica um resultado negativo.

Positive / Positif / Positivo



EN The presence of two color lines ("T" band and "C" line) within the result window in left-side, no matter which line appears first, indicates a positive result.

FR La présence de deux lignes de couleur (band «T» et bande «C») dans la fenêtre de résultat, quelque soit la ligne qui apparaît en premier, indique un résultat positif.

ES La presnecia de una líneas de color (banda "T" y "C") dentro de la ventana de resulrados, no importa cual línea aparezca primero, indica un resultado positivo.

PT A presena de duas linhas coloridas (T e C) dentro da janela de resultados, no importando qual se apresenta primeiro, indica um resultado positivo.

Invalid / Invalide / No valido / Inválido



EN -No control (C) line in result window.
-It is recomended that the specimen be re-tested.

FR -Pas de ligne de contrôle «C» dans la fenêtre de résultat.
-Il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon.

ES Si no es visible la línea de color dentro de la ventana de resultados después de realizar la prueba se considera el resultado inválido.

PT Se a linha colorida no for visvel dentro da janela de resultados aps a realizao do teste, o resultado considerado invlido. Recomenda-se que a amostra seja testada novamente.

Dengue IgG IgM

1. IgM positive / Positif pour les IgM / IgM positivo



EN (primary dengue infection)
-Two lines "C" and "M" in result window.
-It is positive even if "M" line is weak.

FR Positif pour les IgM (primo-infection à la dengue)
- Deux lignes «C»et «M» dans la fenêtre de résultat
- Lire positif même si la ligne "M" est faible.

ES La línea de control (C) y la línea IgM (M) están visibles en el dispositivo de prueba.
Esto es positivo para los anticuerpos IgM para el virus del dengue. Esto es indicativo de una infección primaria de dengue.

PT A linha controle (C) e a linha (M) so visveis no dispositivo de teste.

2. IgG positive / IgG positivo



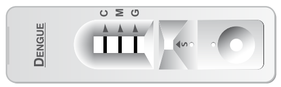
EN (Secondary or past dengue infection)
-Two lines "C" and "G" in result window.
-It is positive even if "G" line is weak.

FR réinfection ou infection ancienne de dengue
- Deux lignes «C» et «G» dans la fenêtre de résultat
- Lire positif même si la ligne «G» est faible

ES La lnea de control (C) y la lnea IgG (G) estn visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgG para el virus del dengue. Esto es indicativo de una infeccin secundaria o anterior de dengue.

PT A linha controle (C) e a linha (G) so visveis no dispositivo de teste.

3. IgG and IgM positive / IgM e IgG positivo



EN (Late primary or early secondary dengue infection)
-Three lines "C", "M" and "G" in result window.

FR IgG et IgM positive (stade tardif de la primo-infection ou réinfection au début)
- Trois lignes «C», «M» et «G» dans la fenêtre de résultat.

ES La lnea de control (C), la lnea IgM (M) e IgG (G) estn visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgM e IgG. Esto es indicativo de una infeccin por dengue primaria tarda o secundaria temprana.

PT A linha controle (C) e as linhas IgM (M) e IgG (G) so visveis no dispositivo de teste.

4. Negative / Négatif / Negativo



EN (No dengue infection)
-One line "C" in result window at right

FR Une ligne «C» dans la fenêtre de résultat à droite.

ES Solamente es visible la lnea de control en el dispositivo de prueba. No se detectaron anticuerpos IgG/IgM.
Repita la prueba en 3-5 das si se sospecha de infeccin por dengue.

PT Somente a linha controle visvel no dispositivo de teste.

5. Invalid / Invalide / No valido / Inválido



EN - No control (C) line in result window.
- It is recommended that the specimen be re-tested.

ES La lnea de control no aparece. Volumen de muestra insuficiente o tcnicas de procedimiento incorrectas son las razones ms probables para la falla de la lnea de control.
Repita la prueba usando un nuevo dispositivo de prueba.



FR - Pas de ligne contrôle (C) dans la fenêtre de résultat.
- Il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon

PT Se a linha colorida no for visvel dentro da janela de resultados aps a realizao do teste, o resultado considerado invlido.

Simultaneous detection of Dengue NS1 Ag & IgG IgM Test

SD BIO LINE Dengue Duo Dengue NS1⊕Ab Combo

Test en une étape pour la détection de l'Antigène NS1 et des anticorps IgG/IgM de la dengue
Detección simultánea de Dengue NS1 y IgG / IgM prueba
Detecção simultânea de Dengue NS1 e IgG / IgM Teste

English

Explanation of the test

[Introduction] Dengue viruses, transmitted by the mosquito, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes, are widely distributed throughout the tropical and subtropical areas of the world. There are four known distinct serotypes (dengue virus 1, 2, 3 and 4). In children, infection is often subclinical or causes a self-limited febrile disease. However, if the patient is infected second times with a different serotype, a more severe disease, dengue hemorrhagic fever or dengue shock syndrome, is more likely to occur. Dengue is considered to be the most important arthropod-borne viral disease due to the human morbidity and mortality it causes. NS1 is a highly-conserved glycoprotein that is present at high concentrations in the sera of dengue-infected patients during the early clinical phase of the disease. NS1 antigen is found from the first day and up to 9 days after onset of fever in sample of primary or secondary dengue infected patients. Usually IgM does not become detectable until 5 to 10 days after the onset of disease in cases of primary dengue infection and until 4 to 5 days after onset of illness in secondary infections. In primary infections, IgG appear the 14th day and persist for life. Secondary infections show that IgGs rise within 1~2 days after the onset of symptoms and induce IgM response after 20 days of infection.

[Intended Use] The SD BIOLINE Dengue Duo rapid test is an *in-vitro* immunochromatographic, one step assay designed to detect both dengue virus NS1 antigen and differential IgG / IgM antibodies to dengue virus in human serum, plasma or whole blood. This SD BIOLINE Dengue Duo rapid test contains two devices (left side ; Dengue NS1 Ag test, right side ; Dengue IgG/IgM test). The Dengue NS1 Ag rapid test in the left side is an in-vitro immunochromatographic, one step assay designed for the qualitative determination of dengue virus NS1 antigen in human serum, plasma or whole blood. It is for the diagnosis of early acute dengue infection. This test device contains a membrane strip, which is pre-coated with anti-dengue NS1 Ag capture on test band region. The anti-dengue NS1 Ag -colloid gold conjugate and serum, plasma or whole blood sample migrate along the membrane strip by capillary action and react with the reagent (?) and forms a visible line on the antibody-antigen-antibody gold particle complex forms. The Dengue IgG / IgM Rapid Test in the right side is a solid phase immunochromatographic assay for the rapid, qualitative and differential detection of IgG and IgM antibodies to dengue virus in human serum, plasma or whole blood. This test is intended for professional use to aid in the presumptive diagnosis between primary and secondary dengue infection. This SD BIOLINE Dengue Duo provides only a preliminary test result. Therefore, isolation of virus, antigen detection in fixed tissues, RT-PCR and serological test like haemagglutination-inhibition test, more specific alternative diagnosis method must be used in order to obtain a confirmation of dengue virus infection.

[Principle] The Dengue NS1 Ag test device result window has 2 pre-coated lines, "I" (NS1 Ag Test Line) and "C" (Control Line). Both the Test Line and the Control Line in result window are not visible before applying any samples. The Control Line is used for procedural control and should always appear if the test procedure is performed correctly. The Dengue NS1 Ag can identify dengue virus NS1 antigen in serum, plasma or whole blood specimens with a high degree of sensitivity and specificity. Dengue IgG / IgM rapid test is designed to simultaneously detect and differenciate IgG and IgM antibodies to dengue virus in human serum, plasma or whole blood. This test also can detect all 4 dengue serotypes by using a mixture of recombinant dengue envelope proteins: Dengue IgG / IgM test device has 3 pre-coated lines, "G" (Dengue IgG Test Line), "M" (Dengue IgM Test Line) and "C" (Control Line) on the surface of the device. All three lines in result window are not visible before applying any samples. The "Control Line" is used for procedural control. Control line should always appear if the test procedure is performed properly and the test reagents of control line are working. A purple "G" and "M" lines will be visible in the result window if there are enough IgG and/or IgM antibodies to Dengue virus in the sample. If IgG and/or IgM antibodies to Dengue virus are not present in the sample, there is no color appearance in "G" and/or "M". When a specimen is added to the sample well, anti-dengue IgG and IgMs in the specimen will react with recombinant dengue virus envelope proteins-colloidal gold conjugates and forms a complex of antibodies-antigen. As this complex migrates along the length of the test device by capillary action, it will be captured by the relevant anti-human IgG and/or anti-human IgM immobilized in two test lines across the test device and generate a colored line.

Materials provided / Active ingredients of main component

1. SD BIOLINE Dengue Duo kit contains the following items to perform the assay.
- Dengue NS1 Ag and Dengue IgG/IgM Combo device
- Assay diluent for Dengue IgG/IgM test
- Sol capillary pipette for Dengue IgG/IgM test
- Disposable dropper for Dengue NS1 Ag test
- Instruction for use
2. Active ingredients of main components
[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]
- 1 test strip included ; Gold Conjugates (as main component) : Mouse monoclonal anti-dengue NS1 – gold colloid (0.27±0.05μg), Test Line (as main component) : Mouse monoclonal antidengue NS1 (0.72±0.14μg), Control Line (as main component) : Goat anti-mouse IgG (0.72±0.14μg)

[SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]
- 1 test strip included ; Gold Conjugates (as main component) : Recombinant Dengue virus envelope protein – gold colloid (1± 0.2 μg), Test Line "G" (as main component) : Mouse monoclonal anti-human IgG (5± 1μg), Test Line "M" (as main component) : Mouse monoclonal anti-human IgM (5± 1μg), Control Line (as main component) : Rabbit anti-Dengue IgG (2.5±0.5μg),
- Assay buffer included ; 100 mM Phosphate buffer (5 ml), Sodium azide (0.01% w/w)

Kit Storage and Stability

1. The SD BIOLINE Dengue Duo test should be stored at 1~30°C.
2. The test strip is sensitive to humidity and as well as to heat.
3. Perform the test immediately after removing the test strip from the foil pouch.
4. Do not use it beyond the expiration.

Precautions / Storage and kit stability

Whole blood
- Collect the whole blood into the collection tube (containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture.
- If blood specimens are not immediately tested, they should be refrigerated at 2~8°C.
- When stored at 2~8°C, the blood specimens should be used within 3 days.
- For storage period longer than 3 days, freezing is recommended. They should be brought to room temperature (15~30°C) prior to test.
- Using the blood specimens in the long-term keeping more than 3 days can cause non-specific reaction.

Plasma or Serum
- **[Plasma]** Collect the whole blood into the collection tube (containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture and then centrifuge blood to get plasma specimen.
[Serum] Collect the whole blood into the collection tube (NOT containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture, leave to settle for 30 minutes for blood coagulation and then centrifuge blood to get serum specimen of supernatant.
- If plasma or serum specimens are not tested immediately, they should be refrigerated at 2~8°C. For storage period longer than 2 weeks, freezing is recommended. They should be brought to room temperature (15~30°C) prior to use.
- Plasma or serum specimens containing a precipitate may yield inconsistent test results. Such specimens must be clarified prior to assaying.

Precaution
- Anticoagulants such as heparin, EDTA, and citrate do not affect the test result.
- As known relevant interference, hemolytic samples, rheumatoid factors-contained samples and lipaemic, icteric samples can lead to impair the test results.
- Use separately disposable capillary pipettes or pipette tips for each sample in order to avoid cross-contamination of either samples which could cause erroneous results.

Warnings

1. For *in vitro* diagnostic use only. DO NOT RE-USE test device.
2. Do not eat or smoke while handling specimens.
3. Wear protective gloves while handling specimens. Wash hands thoroughly afterwards.
4. Avoid splashing or aerosol formation.
5. Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
6. Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials, as if they were infectious waste, in a biohazard container.
7. Do not use the test kit if the pouch is damaged or the seal is broken.
8. The instruction must be followed exactly to get accurate results.

Procedure of the test (Refer to figure of Test Procedure)

[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]
1. Remove the test device from the foil pouch, and place it on a flat, dry surface.
2. With a disposable dropper, add 3 drops (about 100μl) of specimen into the sample well (S).
3. As the test begins to work, you will see purple color move across the result window in the center of the test device.
4. Interpret test results at 15~20 minutes.
5. A positive result will not change once it has been established at 15 ~ 20 minutes. However, in order to prevent any incorrect results, the test result should not be interpreted after 20 minutes.

[SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]
1. Allow all kit components and specimen to room temperature prior to testing.
2. Remove the test device from foil pouch, place it on a flat, dry surface.
3. With 10μl capillary pipette, add 10μl of specimen drawn to black line into the square sample well marked "S".
4. Add 4 drops (about 90~120μl) of assay diluent to the assay diluent well round shaped.
5. Interpret test results at 15~20 minutes.
Caution : Do not read test results after 20 minutes. Reading too late can give false results.

Interpretation of the test (Refer to figure)

[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]
- **Negative Result :** The presence of each one color line within the result window indicates a negative result.
- **Positive result :** The presence of two color lines ("I" band and "C" band) within the result window no matter which line appears first, indicates a positive result.
- **Invalid Result :** If the color line is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. The directions may not have been followed correctly or the test may have deteriorated. It is recommended that the specimen be re-tested.

[SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]
- **Negative :** The control line is only visible on the test device. No IgG and IgM antibodies were detected. Retest in 5-7 days if dengue infection is suspected.
- **IgM Positive :** The control line (C) and IgM line (M) are visible on the test device. This is positive for IgM antibodies to Dengue virus. This is indicative of a primary dengue infection.
- **IgG Positive :** The control line and IgG line (G) are visible on the test device. This is positive for IgG antibodies. This is indicative of secondary or past dengue infection.
- **IgG and IgM Positive :** The control line, IgM (M) and IgG line (G) are visible on the test device. This is positive for both IgM and IgG antibodies. This is indicative of a late primary or early secondary dengue infection.
- **Invalid :** The control line fails to appear. Insufficient specimen volume or incorrect procedural techniques are the most likely reasons for control line failure. Repeat the test using a new test device.

Limitations of the test

1. A negative result can occur if the quantity of Dengue virus NS1 antigen present in the specimen is below the detection limits of the assay, or the antigens that are detected are not present during the stage of disease in which a sample is collected.
2. A negative test result cannot exclude a recent infection.
3. The presence of detectable Dengue virus NS1 Ag may mean positive for early Dengue Infection. As with all diagnostic tests, all results must be considered with other clinical information available to the physician.
4. In early infections and some secondary infections, detectable levels of IgM antibodies may be low. Some patients may not produce detectable levels of antibody within the first seven to ten days after infection. Where symptoms persist, patients should be re-tested 3-4 days after the first species.
5. Serological cross-reactivity across the Flavivirus group (Dengue virus, St. Louis encephalitis, Japanese encephalitis, West Nile and yellow fever virus) is common.

Internal Quality Control

The SD BIOLINE Dengue NS1 Ag test device has "Test Line" and "Control Line" on the surface of the cassette. And the SD BIOLINE Dengue IgG / IgM test device has "G(Dengue IgG Test Line)", "M(Dengue IgM Test Line)" and "C(Control Line)". All the Test Lines and Control Lines in result window are not visible before applying any samples. The Control Line is used for procedural control.Control line will appear if the test reagents of control line are working and assay diluent has been applied properly. Control line does not guarantee that the sample has been applied properly, or that the sample was correctly stored particularly if it was a whole blood sample.

Expected value

The NS1 is expected to be detected 1 day after the onset of fever and persist up to 9 days in both primary and secondary dengue infection. But if anti-NS1 antibodies produced, the detection of NS1 is inhibited. Primary dengue is characterized by the presence of detectable IgM 3-5 days after the onset of infection. Secondary dengue is characterized by the elevation of specific IgG 1-2 days after the onset of infection and in the majority of cases this is generally accompanied by an elevation of IgM.

Product Disclaimer:
Whilst every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the Manufacturer and Distributor and the result may accordingly be affected by environmental factors and / or user error. A person who is the subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the result.

Warning:
The Manufacturers and Distributors of this product shall not be liable for any losses, liability, claims, costs or damages whether direct or indirect or consequential arising out of or related to an incorrect diagnosis, whether positive or negative, in the use of this product.

Date Issued : 2011. 09
11FK45-En-1

Performance Characteristics

1. Dengue NS1 Ag Sensitivity and Specificity
The specimens used in this test were confirmed by RT-PCR and/or Viral culture.

		RT-PCR and/or Viral culture		Total
		Positive	Negative	
SD Dengue NS1 Ag	Positive	104	3	107
	Negative	8	186	194
	Total	112	189	301

* Sensitivity = 104/112 x 100 = 92.8 %, Specificity = 186/189 x 100 = 98.4 %

2. Dengue IgG/IgM Sensitivity and specificity
The comparison results of SD BIOLINE Dengue IgG/IgM test with Haemagglutination inhibition (HI) test showed that SD BIOLINE Dengue IgG/IgM test had good correlation with HI test.

		Reference assay : HI test		Total
		Positive	Negative	
SD Dengue IgG/IgM	Positive	159	3	162
	Negative	1	39	40
	Total	160	42	202

* Sensitivity = 159/160 x 100 = 99.4 %, Specificity = 39/42 x 100 = 93 %

Technique used	No. of samples teste	IgM positive only	IgG positive only	IgG+IgM Both positive	Total IgM positive	Total IgG positive	Negative
MAC-ELISA	202	39	45	76	115	121	42
Commercial Rapid	202	41	88	32	73	120	41
SD Dengue IgG/IgM	202	33	21	108	141	129	40

3. Sensitivity of SD Dengue Duo related to clinical signs appriation

Days after symptom onset	No. of samples	No. of positive samples (%)				
		IgG antibody	IgM antibody	Total Antibody(*1)	NS1 Ag	Final Result(*2)
1st	1~7	52	9 (17.3)	21 (40.4)	23 (44.2)	43 (82.7)	49 (94.3)
	8~14	30	26 (86.7)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	30 (100)
	15~21	36	35 (97.2)	36 (100)	36 (100)	5 (13.9)	36 (100)
2nd	1~7	36	24 (66.7)	8 (22.2)	24 (66.7)	24 (66.7)	32 (88.9)
	8~14	34	34 (100)	18 (53)	34 (100)	14 (41.2)	34 (100)
	15~21	42	42 (100)	24 (57.2)	42 (100)	3 (7.2)	42 (100)

* 1 : Dengue IgG and/or IgM * 2 : Dengue NS1 and/or IgG&IgM antibody
4. Cross-reactivity test with other Flavivirus mediated and mosquitoes-borne disease

Disease	Dengue IgM Negative/Total	Dengue IgG Negative/Total	Dengue NS1 Ag Negative/Total
Japanese Encephalitis	25/25	25/25	25/25
Yellow Fever	25/25	25/25	25/25
Malaria *P. falciparum*	25/25	25/25	25/25
Malaria *P. vivax*	25/25	25/25	25/25
Total	100/100	100/100	100/100

5. Precision : Within-run and between-run precisions have been determined by the testing of ten specimens three times : 6 of negative, 3 of low positive, 3 of medium positive and 3 of strong positive. All values were collectly identified 100% of the time.
6. To evaluate the interference of Dengue Duo rapid kit with known relevant interfering specimens, the hemolytic samples, rheumatoid factorscontained samples and lipaemic, icteric samples were investigated. In these studies, those specimens did not interfere with this test kit.
7. Analytical sensitivity : the limit of detection ; the smallest amount of the target marker that can be precisely detected ; have been equal or superior to a leading commercial dengue NS1 Ag and antibody detection rapid test.

Français

Explication du test

Les virus de la dengue, transmis par le moustique, *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* sont très répandus dans les régions tropicales et subtropicales du monde. Il existe quatre sérotypes distincts connus (virus de la dengue 1, 2, 3 et 4). Chez les enfants, l'infection est souvent subclinique ou est responsable d'un état fébrile bouteilo, si le patient est infecté une seconde fois avec un sérotype différent, les manifestations cliniques plus graves comme la dengue hémorragique ou un syndrome de choc, peuvent apparaître La dengue est considérée comme la plus importante des maladies virales transmises par les arthropodes en raison de la morbidité et de mortalité qu'elle provoque NS1 est une glycoprotéine hautement conservée présente à des concentrations élevées dans le sérum de patients infectés par la dengue au cours de la phase clinique au stade précoce de la maladie. Au cours d'une infection primaire ou secondaire de la dengue, l'antigène NS1 est retrouvé dans les prélèvements de la première jour et persiste jusqu'à 9 jours après le début de la fièvre. Le délai de détection des IgM est habituellement de 5 à 10 jours après l'apparition de la maladie au cours d'une primo-infection et 4 à 5 jours après l'apparition de la maladie au cours des réinfections Dans les primo-infections, les IgG apparaissent le 14e jour et persistent toute la vie. Au cours des réinfections, les IgG apparaissent 1 ~ 2 jours après l'apparition des symptômes et les IgM apparaissent 20 jours après l'infection.

[But] Le test rapide SD BIOLINE Dengue Duo est un test d'immuno-chromatographie *in vitro* en une étape qui détecte l'antigène NS1 et les anticorps IgG /IgM du virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Le test SD BIOLINE Dengue Duo est composé de 2 cassettes : la cassette de gauche pour la détection de l'antigène NS1 et la cassette de droite pour la détection des anticorps IgG / IgM. Le test rapide de détection de l'Antigène NS1de la dengue est un test d'immuno- chromatographie in vitro, en une étape de détection qualitative de l'antigène NS1 du virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total pour le diagnostic précoce de la dengue aiguë. La cassette du test contient une membrane, qui est pré- enduites ou sensibilisée par l'anticorps de capture anti-NS1 de dengue sur la zone de test. Le conjugué colloïde or d'anticorps anti- NS1 de Dengue et le sérum, le plasma ou l'échantillon de sang total vont vers et déplacer ensemble par chromatographie sur la membrane vers la zone de test (T) et forment un complexe coloré anticorps-antigènes-anticorps visible sur la fenêtre (T) de résultat. Le test rapide de la dengue IgG / IgM sur le côté droit est un test d'immuno-chromatographie en phase solide pour la détection rapide, qualitative et différentielle des anticorps IgG et IgM du virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total humain Ce test est destiné à un usage professionnel pour aider au diagnostic présomptif entre une primo-infection et une réinfection de la dengue. Le test SD BIOLINE Dengue Duo ne donne qu'un seul résultat préliminaire. Par conséquent, l'isolement du virus, la détection de l'antigène en tissus fixés, la RT-PCR et les tests sérologiques comme les méthodes d'inhibition de l'hémagglutination, doivent être utilisées pour la confirmation de l'infection au virus de la dengue.

[Principe] La cassette du test Antigène NS1 de la dengue possède une fenêtre de résultat avec deux pré-enduites, "I" (ligne de test NS1) et "C" (ligne de contrôle). La ligne de test et la ligne de contrôle dans la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant le dépôt de tout échantillon La ligne de contrôle est utilisée pour le contrôle de la procédure et doit toujours apparaître si la procédure du test est effectuée correctement. Le test Antigène NS1 peut identifier les antigènes NS1 du virus de la dengue dans du sérum, le plasma ou le sang total avec un degré élevé de sensibilité et de spécificité. Le test rapide de détection des IgG / IgM de la dengue est conçu pour détecter simultanément et d'une façon différentielle, les anticorps IgG et IgM du virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total. Ce test peut également détecter les 4 sérotypes de dengue en utilisant un mélange de protéines recombinantes d'enveloppe de la dengue. La cassette du test Dengue IgG / IgM a 3 lignes pré-enduites, "G" (ligne de test IgG), "M" (ligne de test IgM) et "C" (ligne de contrôle) sur sa surface . Toutes ces trois lignes dans la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant le dépôt de tout échantillon. La "ligne de contrôle" est utilisée pour le contrôle de la procédure. La ligne de contrôle doit toujours apparaître si la procédure du test est effectuée correctement et que les réactifs du test de la ligne de contrôle fonctionnent. Des lignes pourpres (ou roses) "G" et "M" seront visibles dans la fenêtre de résultat s'il y a assez d'anticorps IgG et / ou IgM du virus de la dengue dans l'échantillon. Si les anticorps IgG et / ou IgM du virus de la dengue ne sont pas présents dans l'échantillon, aucune coloration n'apparaît sur les lignes "G" et / ou "M". Lorsqu'un échantillon est déposé dans le puits positif, l'effet des anticorps IgG et IgM anti-dengue sur les réactifs de l'échantillon réagissent avec les protéines recombinantes d'enveloppe du virus de la dengue présentes dans le conjugué colloïde -or pour former un complexe anticorps-antigène. Ce complexe migre par capillarité sur la membrane et sera capturé par les anticorps anti-IgG humains spécifiques et / ou anti-IgM humains immobilisé au niveau des deux lignes du test G et M sur la cassette et générè ainsi une ligne colorée.

Matériels fournis / les composants majeurs du réactif

1. SD BIOLINE Dengue Duo kit contient les éléments suivants pour réaliser le test.
- Dispositif combo de Dengue NS1 Ag et Dengue IgG / IgM.
- diluant pour le test de Dengue IgG / IgM
- Tube capillaire de 10μg pour le test Dengue IgG / IgM
- Compte-gouttes à usage unique pour le test Dengue NS1 Ag
- Notice d'utilisation
2. Les composants du réactif
[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]
- 1 bandelette de test inclut ; conjugué-or : colloïde d'anticorps monoclonaux de souris anti-NS1 de dengue (0,27 ± 0,05μg), ligne de test: anticorps monoclonaux de souris anti- NS1 (0,72 ± 0,14 μg), Ligne de contrôle: anticorps de chèvre anti- IgG de souris (0,72 ± 0,14 μg)

[SD BIOLINE IgG/IgM de Dengue]
- 1 bandelette de test inclut; conjugué-or: colloïde d'or de protéines recombinantes d'enveloppe du virus de Dengue (1 ± 0,2 μg), Test Line "G": anticorps monoclonaux de souris anti- IgG humain (5 ± 1 μg), Test Line "M": anticorps monoclonaux de souris anti- IgG humain (5 ± 1 μg), ligne de contrôle: anticorps de lapin anti-IgG de dengue (2,5 ± 0,5 μg),
- Tampon du test composé de : 100 mM tampon phosphate (5 ml), azide de sodium (0,01% p / v)

Conservation et stabilité du kit

1. Le test SD BIOLINE Dengue Duo doit être conservé à 1~30°C.
2. La bandelette du test est sensible à l'humidité et à la chaleur.
3. Effectuer le test immédiatement après avoir retiré la cassette de son emballage.
4. Ne pas l'utiliser au-delà de la date d'expiration.

Prélèvement des échantillons, conservation et Précaution

Sang total
- Prélever le sang total dans un tube (contenant un anticoagulant comme l'héparine, l'EDTA ou citrate de sodium) par ponction veineuse.
- Si les échantillons de sang total ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés à 2 ~ 8°C.
- Lorsqu'ils sont stockés à 2 ~ 8 °C, les échantillons de sang total doivent être utilisés dans les 3 jours.
- Pour les délais de conservation de plus de 3 jours, il est recommandé de congeler les échantillons. Avant utilisation, ces échantillons doivent être ramenés à température ambiante (15 ~ 30°C).
- L'utilisation des échantillons de sang total de plus de 3 jours peut provoquer une réaction non spécifique.

Plasma ou sérum
- **[Plasma]** Prélever le sang total dans un tube (contenant un anticoagulant comme l'héparine, l'EDTA et citrate de sodium) par ponction veineuse, puis centrifuger pour obtenir un échantillon de plasma.
[sérum] Prélever le sang total dans un tube sec (sans anticoagulant) par ponction veineuse, laisser décanter pendant 30 minutes, centrifuger et recueillir le surnageant qui est le sérum.
- Si les échantillons de plasma ou de sérum ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés entre 2 ~ 8 °C. Pour la période de conservation de plus de 2 semaines, il est recommandé de congeler les échantillons. Avant utilisation, ces échantillons doivent être ramenés à température ambiante (15 ~ 30°C).
- Les échantillons de plasma ou de sérum contenant des précipités peuvent donner des résultats incohérents. Ces échantillons doivent être clarifiés avant d'être testés.

Précaution
- Les anticoagulants comme l'héparine, EDTA, et citrate n'affectent pas le résultat du test.
- Comme il a été précédemment démontré, l'utilisation des échantillons hémolysés, lipémiques, ictériques ou contenant des facteurs rhumatoïdes peuvent influencer les résultats.
- Utilisez des tubes capillaires jetables ou les embouts de pipettes pour chaque échantillon afin d'éviter la contamination croisée des échantillons qui pourraient entraîner des résultats erronés.

Mise en garde

1. Pour usage diagnostique *in vitro* uniquement. Ne pas réutiliser la cassette du test.
2. Ne pas manger ou fumer pendant la manipulation des échantillons
3. Porter des gants pendant la manipulation des échantillons. Se laver les mains après la manipulation.
4. Éviter les éclaboussures ou la formation d'aérosols.
5. Nettoyer les éclaboussures avec un désinfectant approprié
6. Traiter les éléments suivants, kit de réactifs et les matériels susceptibles d'avoir été contaminés comme des déchets biologiques dangereux. Les décontaminer et les jeter dans des conteneurs pour produits à risque biologique.
7. Ne pas utiliser le kit si le sachet est endommagé ou s'il est pas scellé.
8. La procédure de réalisation du test doit être correctement suivie pour obtenir des résultats corrects.

Procédure d'utilisation du test (Voir la figure de procédure du test)

[SD Dengue NS1 Ag BIOLINE]
1. Retirez la cassette du test de son emballage, et le placez sur une surface plane et sèche.
2. Avec un compte-goutte jetable, ajoutez 3 gouttes (environ 100 μl) de l'échantillon dans le puits échantillon (S).
3. Lorsque le test commence à fonctionner, vous verrez une couleur pourpre (ou rose) traverser la fenêtre de résultat de la cassette.
4. Interprétez les résultats entre 15 ~ 20 minutes.
5. Un résultat positif se forme entre 15 ~ 20 minutes. Toutefois, afin d'éviter des résultats incorrects, le résultat du test ne devrait pas être interprété après 20 minutes.

[SD BIOLINE Dengue IgG/IgM]
1. Ramener tous les composants du kit et les échantillons à température ambiante avant de commencer la manipulation.
2. Sortir la cassette de son emballage et la poser sur une surface plane et sèche.
3. Avec un tube capillaire de 10 μl, ajouter 10 μl de l'échantillon correspondant à la ligne noire du tube capillaire, dans le puits carré réservé pour l'échantillon marqué "S".
4. Ajouter 4 gouttes (environ 90 ~ 120 μl) de diluant du test dans le puits rond correspondant au puits du diluant.
5. Interpréter les résultats : 15 ~ 20 minutes.
Attention: Ne pas lire les résultats du test après 20 minutes. Une lecture tardive peut donner de faux résultats.

Interprétation des résultats du test (Voir la figure d'interprétation)

[SD Dengue NS1 BIOLINE]
- **Résultat négatif :** La présence d'une seule ligne colorée dans la fenêtre de résultat indique un résultat négatif.
- **Résultat positif :** La présence de deux lignes colorées (bande "I" et bande C) dans la fenêtre de résultat, peu importe la ligne qui apparaît la première, indique un résultat positif.
- **Résultat non valide :** Si la ligne colorée correspondant à la bande contrôle C, n'est pas visible dans la fenêtre de résultat après avoir effectué le test, le résultat est invalide. Les procédures peuvent ne pas avoir été correctement suivies ou le test peut être détérioré. Il est recommandé que l'échantillon soit testé de nouveau.

[SD BIOLINE Dengue IgG/ IgM]
- **Résultat Négatif :** Seule la ligne de contrôle est visible sur la cassette. Aucun anticorps IgG ou IgM n'a été détecté. Refaire le test dans 5-7 jours s'il y a suspicion d'une infection par les virus de la dengue
- **Résultat positif pour les IgM :** La ligne de contrôle (C) et la ligne IgM (M) sont visibles sur la cassette du test. La positivité IgG signifie une infection au virus de la dengue.
- **Résultat positif pour les IgG et IgM :** La ligne de contrôle (C), les lignes IgM (M) et IgG (G) sont visibles sur la cassette du test. La positivité des anticorps IgM et IgG signifie une primo-infection à sa phase tardive ou le début d'une réinfection de la dengue.
- **Résultat invalide :** La ligne de contrôle (C), n'apparaît pas. Les raisons les fréquentes d'un tel résultat sont : volume d'échantillon insuffisant ou non respect de la procédure de réalisation du test. Répétez le test avec une cassette.

Limites du test

1. On peut obtenir un résultat négatif si la quantité de l'antigène NS1 du virus de la Dengue présent dans l'échantillon est inférieure aux limites de détection du test, ou le patient ne souffre pas de la dengue.
2. Un résultat négatif ne peut exclure une infection récente.
3. La détection de l'Ag NS1 du virus de la Dengue peut signifier une dengue au stade précoce. Comme pour tous les tests de diagnostic, tous les résultats doivent être confrontés avec des renseignements cliniques à la disposition du médecin
4. Dans les infections au stade précoce et les réinfections, le niveau d'anticorps IgM peut être bas et donc indétectable. Chez certains patients, le niveau des anticorps reste indétectable dans les 7 à 10 premiers jours après l'infection. Si les symptômes persistent, les patients doivent être testés de nouveau 3-4 jours après le premier échantillon.
5. Les réactions sérologiques croisées avec les autres Flavivirus (virus de l'encéphalite de Saint-Louis, l'encéphalite japonaise, virus West Nile et le virus de la fièvre jaune) sont fréquentes.

Contrôle interne de qualité

La cassette du test SD BIOLINE Dengue NS1 Ag possède "une ligne de Test " et "une ligne de contrôle» sur sa surface. Et la cassette du test SD BIOLINE Dengue IgG / IgM possède des lignes "G (ligne de test IgG Dengue)" ; "M (ligne de test IgM dengue)"et "C (ligne de contrôle)". Toutes les lignes de test et de contrôle dans la fenêtre de résultat ne sont pas visibles avant le dépôt de tout échantillon. La ligne de contrôle est utilisée pour le contrôle de la procédure. Une couleur mauve violet apparaît sur la bande de contrôle si le test fonctionne correctement et si le diluant a été appliqué correctement en cas de l'utilisation du sang total. Mais la bande de contrôle ne garantit pas que si l'échantillon a été appliqué correctement ou si l'échantillon a été conservé de manière correct, particulièrement en cas d'une échantillon de sang total.

La valeur attendue

Le NS1 peut être détecté 1 jour après l'apparition de la fièvre et persistent jusqu'à 9 jours dans les deux cas de dengue primaire et secondaire. Mais si des anticorps anti-NS1 sont produits, la détection de NS1 est inhibée. La primo-infection de dengue est caractérisée par la présence d'IgM détectables 3-5 jours après le début de l'infection. La dengue secondaire est caractérisée par l'élévation des IgG spécifiques 1-2 jours après le début de l'infection et dans la majorité des cas, cela est généralement accompagné par une élévation des IgM.

Clause de non responsabilité :
Bien que toutes les précautions soient prises pour assurer le fonctionnement et la précision du diagnostic de ce produit, il n'est pas utilisé sous le contrôle du Fabricant et du Distributeur. Le résultat peut donc être affecté par des facteurs environnementaux et/ou une erreur d'utilisation. Il est fortement recommandé de consulter un médecin pour confirmer le résultat du test.

Attention :
Les Fabricants et Distributeurs de ce produit ne sont en aucun cas responsables des pertes, responsabilité, revendications, coût ou dommages, directs ou indirects, consécutifs ou reliés à un diagnostic erroné, positif ou négatif, lors de l'utilisation de ce produit.

Date Issued : 2011. 09
11FK45-Fr-0

Caractéristiques de performance

1. Sensibilité et spécificité de Dengue NS1 Ag
Les échantillons utilisés cette évaluation ont été confirmés par RT-PCR et / ou culture virale.

		RT-PCR et / ou la culture virale		Total
		Positive	Négative	
Dengue NS1 Ag SD	Positive	104	3	107
	Négative	8	186	194
	Total	112	189	301

*Sensibilité = 104/112 x 100 = 92,8% Spécificité = 186/189 x 100 = 98,4%

2. Sensibilité et spécificité de Dengue IgG / IgM
Les résultats de la comparaison des tests SD BIOLINE Dengue IgG / IgM avec le test d'inhibition de l'hémagglutination (IH) ont montré que SD BIOLINE Dengue IgG / IgM avaient une bonne corrélation avec le test IH.

		Test de référence: le test IH		Total
		Positive	Négative	
IgG Dengue SD / IgM	Positive	159	3	162
	Négative	1	39	40
	Total	160	42	202

* Sensitivity = 159/160 x 100 = 99.4 %, Specificity = 39/42 x 100 = 93 %

Technique utilisée	Nombre d'échantillons testés	échantillons positifs uniquement aux IgM	échantillons positifs uniquement aux IgG	échantillons positifs IgG + IgM	Total IgM positif	Total IgG positif	Négatifs
MAC-ELISA	202	39	45	76	115	121	42
Commercial Rapid	202	41	88	32	73	120	41
SD Dengue IgG/IgM	202	33	21	108	141	129	40

3. Sensibilité des SD Dengue Duo liés à l' apparition des signes cliniques

Quelques jours après l'apparition des symptômes	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons positifs (%)				
		Anticorps IgG	Anticorps IgM	Anticorps Total (*1)	NS1 Ag	Résultat final (*2)
1ère	1~7	52	9 (17.3)	21 (40.4)	23 (44.2)	43 (82.7)	49 (94.3)
	8~14	30	26 (86.7)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	30 (100)
	15~21	36	35 (97.2)	36 (100)	36 (100)	5 (13.9)	36 (100)
2ème	1~7	36	24 (66.7)	8 (22.2)	24 (66.7)	24 (66.7)	32 (88.9)
	8~14	34	34 (100)	18 (53)	34 (100)	14 (41.2)	34 (100)
	15~21	42	42 (100)	24 (57.2)	42 (100)	3 (7.2)	42 (100)

* 1 : Dengue IgG et / ou IgM Dengue NS1 et / ou anticorps IgG et IgM
4. Test de la réaction croisée avec d'autres maladies à Flavivirus et les maladies transmises par les moustiques

Maladie	Dengue IgM Négatif / Total	Dengue IgG négatif / Total	Dengue NS1 Ag Négatif / Total
L'encéphalite japonaise	25/25	25/25	25/25
La fièvre jaune	25/25	25/25	25/25
Le paludisme à *P. falciparum*	25/25	25/25	25/25
Le paludisme à *P. vivax*	25/25	25/25	25/25
Total	100/100	100/100	100/100

5. Précision: La reproductibilité intra-test et inter-test a été déterminée en utilisant 10 fois trois échantillons différents: 6 négatifs, 3 faibles positifs, 3 positifs moyens et 3 positifs forts. Toutes les valeurs ont été correctement identifiées dans 100% de cas.
6. Pour évaluer l'interférence de la Dengue Duo kit rapide avec des échantillons contenant des substances d'interférence connue, les échantillons hémolytiques, échantillons contenant des facteurs rhumatoïdes, échantillons lipémiques, ictériques ont été étudiés. Les résultats de ces échantillons ne montrent aucune interférence avec ce kit
7. Sensibilité analytique: La limite de détection; la plus petite quantité d'Ag NS1 et des anticorps IgG et IgM pouvant être détectée avec précision a été égale ou supérieure à celle d'autres tests commerciaux.

Español

Explicación de la prueba

Los virus del d

Simultaneous detection of Dengue NS1 Ag & IgG IgM Test

SD BIO LINE Dengue Duo
Dengue NS1 ⊕ Ab Combo

Test Procedure
Procédure du Test Rapide
Procedimiento de Prueba Rápida
Procedimento do Teste Rápido

1

EN Now, open the package and look for the following;
1. Test device individually foil pouched with a desiccant
2. Assay diluent
3. Instructions for use
4. Capillary Pipette 10µl
5. Disposable dropper

FR Ouvrir le kit et vérifier les éléments suivants:
1. La plaque de test Dans son enveloppe Protectrice puis le déshumidificateur
2. Diluent
3. manuel d'utilisationrt
4. Pipette capillaire 10µl
5. Goutteur jetable

ES Ahora, abra el empaque y busque a continuación:
1. Dispositivo de prueba en sobre de aluminio individual con desecante
2. Diluyente del ensayo
3. Instrucciones para el uso
4. Pipeta capilar de 10µl
5. Gotero desechable

PT Abra a embalagem e observe abaixo:
1. Teste em card individualmente embalado com dessecante
2. Diluente de ensaio
3. Instruções de uso
4. Pipeta capilar de 10µl
5. Conta-gotas descartável

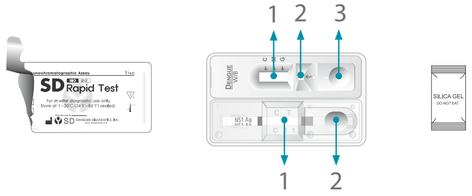


EN Open the foil pouch and look for the following.
1. Result window
2. Sample well
3. Assay diluent well

FR Open the foil pouch and look for the following.
1. Fenêtre de résultat
2. Puits d'échantillon (rond)
3. Puits pour le diluant (carré)

ES Abra el empaque de aluminio y busque lo siguiente:
1. Ventana de Resultados
2. Pozo de muestra
3. diluyente del ensayo

PT Abra o envelope e observe
1. Janela de resultado
2. Janela de amostra
3. diluente de amostra



2

EN FIRST, read carefully the instruction on how to use the SD BIOLINE Dengue Duo test kit.

FR Lire attentivement la notice du kit de SD BIOLINE Malaria Ag Pf/Pv.

ES PRIMERO, Lea cuidadosamente las instrucciones sobre cómo usar el kit de prueba SD BIOLINE Dengue Duo.

PT Primeiramente leia cuidadosamente as instruções de como usar o teste SD BIOLINE Dengue Duo.

3

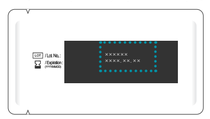
EN Next, look at the expiry date at the back of the foil pouch. Use another kit, if expiry date has passed.

FR Vérifier la date de péremption au verso de l'enveloppe protectrice. Utiliser un autre kit si la date de péremption est dépassée.

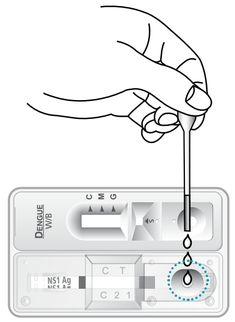
ES Luego, verifique la fecha de vencimiento en la parte posterior de la bolsa de aluminio. Use otro kit, si la fecha ha expirado.

PT Observe a data de validade atrás do envelope. Use outro kit caso a data de validade já tenha se passado.

[For example / Por ejemplo / Par exemple]



4



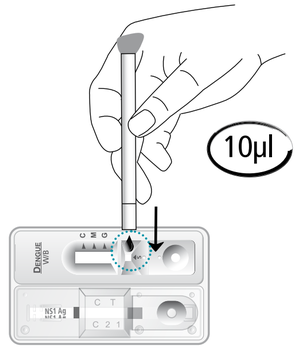
EN Using disposable dropper provided, add 3 drops (about 100µl) of serum, plasma or whole blood into the sample well marked "S".

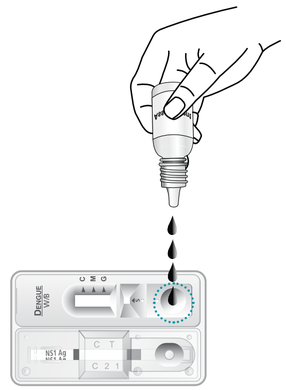
FR Utiliser un compte-goutte jetable, ajoutez 3 gouttes (environ 100µl) de sérum, de plasma ou de sang total dans le puits à échantillon marqué "S".

ES Con un gotero desechable, aada 3 gotas (cerca de 100µl) de muestra en el pozo de muestra (S).

PT Utilizando o conta-gotas descartvel, adicionar 3 gotas (cerca de 100µl) da amostra no poo de amostras (S).

Or





EN Using capillary pipette provided, add 10µl of serum, plasma or whole blood into the sample well marked "S".

FR Utiliser le tube capillaire fourni, déposer 10µl de sérum, de plasma ou de sang total dans le puits à échantillon marquée "S".

ES Con una pipeta capilar de 10µl, aada 10µl de la muestra de suero, plasma o sangre total en la lnea negra dibujada dentro del pozo de muestra cuadrado marcado con S

PT Com a pipeta capilar de 10µl adicionar 10µl de amostra de soro, plasma ou sangue total aspirada at a linha negra dentro do quadrado do poo de amostra marcado S.

EN Put 4 drops of assay diluent into the assay diluent well round shaped.

FR Mettre 4 gouttes de diluant de test dans le puits de diluant du test de forme ronde.

ES Aada 4 gotas (cerca de 90-120µl) del diluyente del ensayo en el pozo de forma redonda.

PT Adicionar 4 gotas (cerca de 90 a 120µl) de diluente da amostra no poo de diluente de amostra de formato redondo.

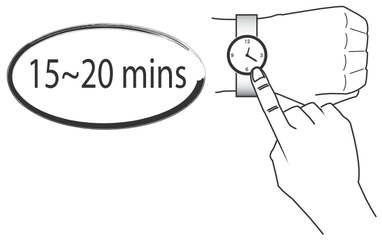
5

EN Interpret test results in 15~20 minutes.

FR Interpréter les résultats dans 15 ~ 20 minutes

ES Interprete los resultados de la prueba a los 15-20 minutos.

PT Interpretar os resultados do teste em 15-20 minutos.

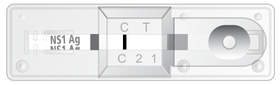


Interpretation / Interprétation / Interpretación / Interpretação

How to interpret test results. / Comment interpréter les résultats du test.
Cómo interpretar los resultados. / Forma de interpretar os resultados dos testes.

Dengue NS1 Ag

Negative / Negatif / Negativo



EN The presence of only one color line within the result window indicates a negative result.

FR La présence d'une seule ligne colorée dans la fenêtre de résultat indique un résultat négatif.

ES La presencia de una línea de color dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.

PT A presena de qualquer uma linha colorida dentro da janela de resultados indica um resultado negativo.

Positive / Positif / Positivo



EN The presence of two color lines ("T" band and "C" line) within the result window in left-side, no matter which line appears first, indicates a positive result.

FR La présence de deux lignes de couleur (band «T» et bande «C») dans la fenêtre de résultat, quelque soit la ligne qui apparaît en premier, indique un résultat positif.

ES La presnecia de una líneas de color (banda "T" y "C") dentro de la ventana de resulrados, no importa cual línea aparezca primero, indica un resultado positivo.

PT A presena de duas linhas coloridas (T e C) dentro da janela de resultados, no importando qual se apresenta primeiro, indica um resultado positivo.

Invalid / Invalide / No valido / Inválido



EN -No control (C) line in result window.
-It is recomended that the specimen be re-tested.

FR -Pas de ligne de contrôle «C» dans la fenêtre de résultat.
-Il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon.

ES Si no es visible la línea de color dentro de la ventana de resultados después de realizar la prueba se considera el resultado inválido.

PT Se a linha colorida no for visvel dentro da janela de resultados aps a realizao do teste, o resultado considerado invlido. Recomenda-se que a amostra seja testada novamente.

Dengue IgG IgM

1. IgM positive / Positif pour les IgM / IgM positivo



EN (primary dengue infection)
-Two lines "C" and "M" in result window.
-It is positive even if "M" line is weak.

FR Positif pour les IgM (primo-infection à la dengue)
- Deux lignes «C»et «M» dans la fenêtre de résultat
- Lire positif même si la ligne "M" est faible.

ES La línea de control (C) y la línea IgM (M) están visibles en el dispositivo de prueba.
Esto es positivo para los anticuerpos IgM para el virus del dengue. Esto es indicativo de una infección primaria de dengue.

PT A linha controle (C) e a linha (M) so visveis no dispositivo de teste.

2. IgG positive / IgG positivo



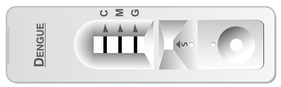
EN (Secondary or past dengue infection)
-Two lines "C" and "G" in result window.
-It is positive even if "G" line is weak.

FR réinfection ou infection ancienne de dengue
- Deux lignes «C» et «G» dans la fenêtre de résultat
- Lire positif même si la ligne «G» est faible

ES La lnea de control (C) y la lnea IgG (G) estn visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgG para el virus del dengue. Esto es indicativo de una infeccin secundaria o anterior de dengue.

PT A linha controle (C) e a linha (G) so visveis no dispositivo de teste.

3. IgG and IgM positive / IgM e IgG positivo



EN (Late primary or early secondary dengue infection)
-Three lines "C", "M" and "G" in result window.

FR IgG et IgM positive (stade tardif de la primo-infection ou réinfection au début)
- Trois lignes «C», «M» et «G» dans la fenêtre de résultat.

ES La lnea de control (C), la lnea IgM (M) e IgG (G) estn visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgM e IgG. Esto es indicativo de una infeccin por dengue primaria tarda o secundaria temprana.

PT A linha controle (C) e as linhas IgM (M) e IgG (G) so visveis no dispositivo de teste.

4. Negative / Négatif / Negativo



EN (No dengue infection)
-One line "C" in result window at right

FR Une ligne «C» dans la fenêtre de résultat à droite.

ES Solamente es visible la lnea de control en el dispositivo de prueba. No se detectaron anticuerpos IgG/IgM.
Repita la prueba en 3-5 das si se sospecha de infeccin por dengue.

PT Somente a linha controle visvel no dispositivo de teste.

5. Invalid / Invalide / No valido / Inválido



EN - No control (C) line in result window.
- It is recommended that the specimen be re-tested.

ES La lnea de control no aparece. Volumen de muestra insuficiente o tcnicas de procedimiento incorrectas son las razones ms probables para la falla de la lnea de control.
Repita la prueba usando un nuevo dispositivo de prueba.



FR - Pas de ligne contrôle (C) dans la fenêtre de résultat.
- Il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon

PT Se a linha colorida no for visvel dentro da janela de resultados aps a realizao do teste, o resultado considerado invlido.

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	**PRESENTACIÓN**
08393	Bolsa x 500 Tubos

MATERIAL	
Tubo traslúcido y tapa azul de Polipropileno (PP) 	
VOLUMEN	• 1,8 mL
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Los tubos son de Polipropileno y constan de dos partes, cuerpo y tapa rosca, con líneas de medición en el costado y base circular para su autosostenimiento. Su principal función es el transporte y almacenamiento de muestras líquidas con varios fines determinados. Los tubos están listos para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipularlos y tomar las medidas de seguridad correspondiente, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI [ ] NO [X] N/A [ ]
AUTOCLAVABLE	SI [X] NO [ ] N/A [ ]
REUSO	SI [ ] NO [X] N/A [ ]
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.
ELIMINACIÓN	
• Si el tubo ha tenido contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico.	

COPIA DE DOCUMENTO

- Si el tubo no ha tenido contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/May/2023	- Creación del documento en plantilla de Isolución, se incluye fotografía del producto.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador de control de calidad investigación y desarrollo **Fecha:** 02/May/2023	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión **Fecha:** 02/May/2023  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista Control de Calidad **Fecha:** 02/May/2023	 **Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera **Cargo:** Director Técnico de Dispositivos Médicos - Gerente **Fecha:** 04/May/2023

COPIA DE DOCUMENTO

V.D.R.L. test

Suspensión antigénica estabilizada para realizar la prueba VDRL modificada (USR) de detección de sífilis

SIGNIFICACION CLINICA

La sífilis es una enfermedad venérea causada por el *Treponema pallidum*, que invade las mucosas intactas o la piel en áreas de abrasiones. El contacto sexual es la forma más común de transmisión.

La detección y tratamiento de la enfermedad en sus estadios tempranos es fundamental a fin de evitar complicaciones graves como sífilis cardiovascular, neurosífilis y sífilis congénita.

El diagnóstico de esta enfermedad sufre la carencia de un método para cultivar el microorganismo en medios de laboratorio y la dificultad para detectarlo en estadios de la enfermedad en los que no se observan lesiones epidérmicas.

Sin embargo, desde el comienzo de la infección aparecen en el suero del individuo infectado ciertas sustancias denominadas "reaginas", que reaccionan con antígenos de cardiolipina, lecitina y colesterol. Estas reaginas junto a los signos clínicos son por lo tanto los procedimientos más rápidos y útiles disponibles para diagnóstico de sífilis.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Las "reaginas", presentes en individuos infectados por *T. pallidum* se detectan en suero por la reacción con un antígeno cardiolipínico purificado y estabilizado. Si la muestra contiene reagina, ésta se unirá al antígeno produciendo una floculación visible en microscopio. Las reacciones inespecíficas se evitan con el empleo de antígeno altamente purificado y el agregado de cloruro de colina característica de la técnica USR (Unheated Serum Reagin) en la que no es necesario inactivar la muestra.

REACTIVOS PROVISTOS

Antígeno: suspensión acuosa de antígeno de cardiolipina y lecitina purificados, en buffer fosfatos con cloruro de colina y EDTA de acuerdo a las indicaciones de la O.M.S.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica (para la prueba semicuantitativa).
- Solución de cloruro de sodio 10 g/dl (para la técnica en líquido cefalorraquídeo).

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Antígeno: estable en refrigerador (2-10ºC) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Antígeno: listo para usar. Agitar previo a la ejecución de la prueba.

PRECAUCIONES

El Reactivo es para uso "in vitro".

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- 1 gotero

2- No Provisto

- Agitador rotativo ajustable a 180 rpm.
- Placa de vidrio transparente con sectores de 14 mm de diámetro cada uno.
- Micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Microscopio

MUESTRA

Suero, plasma o líquido cefalorraquídeo (LCR)

a) Recolección: obtener de la manera usual. No inactivar.

b) Aditivos: no se requieren para suero o LCR. Si la prueba se realiza con plasma, éste puede obtenerse empleando heparina, EDTA u oxalato de sodio como anticoagulantes.

c) Sustancias interferentes conocidas: hemólisis o hiperlipemia pueden ocasionar resultados erróneos.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: en caso de no procesarse de inmediato los sueros pueden conservarse hasta una semana en refrigerador (2-10ºC). El plasma puede emplearse hasta 24 horas luego de la extracción.

PROCEDIMIENTO

Tanto los reactivos como la muestra deben estar a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.

I- PRUEBA CUALITATIVA EN SUERO O PLASMA

En cada uno de los sectores delimitados de la placa colocar:

Muestra	50 ul

Con gotero provisto colocar:

Antígeno	1 gota

Agitar horizontalmente la placa a 180 rpm durante 4 minutos. Observar inmediatamente en microscopio con poco aumento (60 a 100 X).

II- PRUEBA SEMICUANTITATIVA EN SUERO O PLASMA

Preparar diluciones de la muestra 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32 con solución fisiológica y realizar para cada dilución la prueba como se describe en I.

III- PRUEBA CUALITATIVA PARA LCR

Diluir el Antígeno 1:2 con solución de cloruro de sodio 10 g/dl. Emplear dentro de las 2 horas de preparación.

En cada sector delimitado de la placa colocar:

Muestra	50 ul

Con aguja calibre 6 agregar:

Antígeno diluido	1 gota (10 ul)

Mezclar bien y agitar horizontalmente la placa durante 8 minutos a 180 rpm. Leer los resultados en microscopio con poco aumento (60 a 100 X).

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Reactivo: presencia de floculación.

No reactivo: ausencia completa de floculación.

Prueba semicuantitativa: el título estará dado por la inversa de la última dilución que se observe reactiva. Leer atentamente las LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Para controlar la calidad del sistema procesar un Control Positivo (suero seguramente reactivo) y un Control Negativo (suero seguramente no reactivo) utilizándolos de la misma forma que las muestras.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Resultados falsamente positivos pueden ser observados en individuos con cuadros patológicos diversos como hepatitis, influenza, brucelosis, lepra, malaria, asma, tuberculosis, cáncer, diabetes y enfermedades autoinmunes. Estos casos no son muy comunes y generalmente presentan reacciones con títulos bajos y una historia clínica que no coincide con las características de sífilis.

Es imprescindible por estos motivos ante toda prueba cualitativa reactiva realizar la prueba semicuantitativa.

Resultados falsamente negativos pueden observarse cuando se presenta el fenómeno de prozona. Por este motivo se recomienda repetir la prueba en suero diluido 1:5 con solución fisiológica para verificar el resultado. Si en estas condiciones se observa floculación la muestra es reactiva.

A pesar de las ventajas de este método, sus resultados al igual que los de cualquier prueba serológica, sólo constituyen un dato auxiliar de diagnóstico que debe corroborarse con la historia clínica del paciente.

PERFORMANCE

Sobre 2140 muestras de un servicio hospitalario, ensayadas usando **V.D.R.L. test** e inmunofluorescencia como método de referencia, se observó una concordancia superior al 96%.

PRESENTACION

Equipo para 250 determinaciones (Cód 1853151).

BIBLIOGRAFIA

- Zinsser Microbiología, Joklik W., Willett H. y Amos D., 17º edición Editorial Médica Panamericana, 1983.
- Manual of Tests for Syphilis, cap. 8 - American Public Health Association, Washington, D.C 20005, 1990.
- Podestá, D.; Svetaz. M.J.; Ricomi, R.; Capriotti, G.; Rojkín, L.; Lorenzo, L.; "Evaluación de tres reactivos para detección de sífilis" - VIII Congreso Argentino de Bioquímica, 54º Triduo Bioquímico Científico Anual 1990 - Revista A.B.A. 54/3, 1990.

Elaborado por:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com.ar
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Inscripto M.S.
Disp. Nº: 1068/91 - 7585/97 - 6895/00

Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina

IHR®
Diagnóstica
REACTIVOS PARA USO IN VITRO

SOPORTE PARA PIPETAS AUTOMATICAS 5 PUESTOS



Construcción en acrílico claro de 5 mm para larga duración

Organiza su estación de trabajo con fácil acceso a las pipetas.

Al acomodar en forma vertical las pipetas evita que el líquido entre al sistema de succión y/o pistón

Acomoda la mayoría de las marcas de pipetas en el mercado.

Capacidad: 5 pipetas

Producto	Código
Soporte pipetas automatica 5 puestos	05042

FICHA TÉCNICA

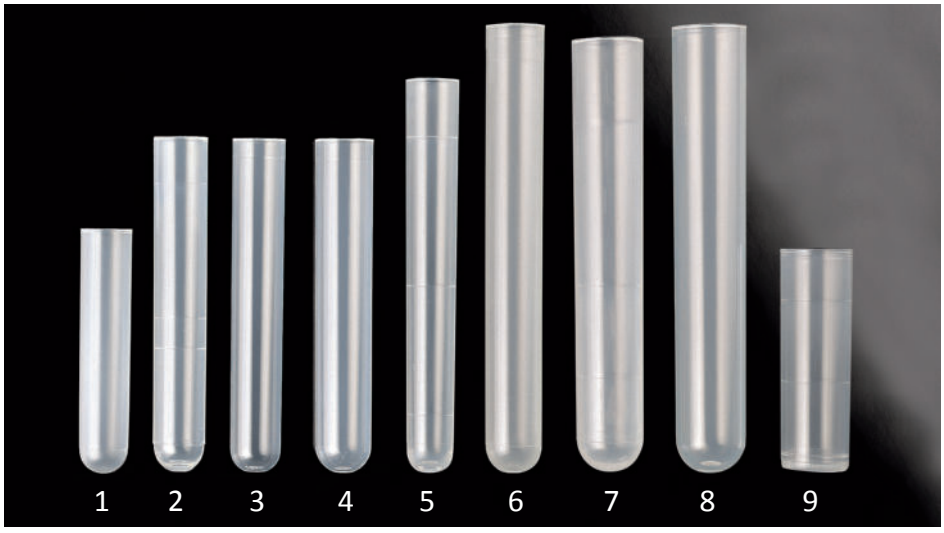
Página 122 Catálogo General 2017

Tubos en polipropileno

códigos 400500, 400800, 400800.1, 400700, 400400, 401700, 400900, 400705, 401100

mod.	código	dimensiones (mm)	volumen (ml)	cantidad caja	peso caja (kg)	volumen caja	cajas palet
1	400500	11x55	3	2x2000	6,50	0,045	32
2	400800	12x75	5	4x1000	8,00	0,075	20
3	400800.1	12x75	5	4x1000	8,00	0,075	20
4	400700	13x75	5	4x1000	11,15	0,082	20
5	400400	12x88	6	4x1000	9,60	0,082	20
6	401700	13x100	7	6x500	9,40	0,082	20
7	400900	16x95	10	5x500	10,10	0,096	16
8	400705	16x100	10	5x500	12,20	0,096	16
9	401100	15x50	5	5x1000	10,40	0,082	20

Directiva 98/79/CE. Productos sanitarios para diagnóstico “in vitro”



USO Y DESCRIPCIÓN

Tubos diseñados para el procesamiento de muestras biológicas de origen humano y su posterior análisis para diagnóstico in vitro.

Fabricados con alta tecnología y moldes de nueva generación para asegurar la reproducibilidad de cada tubo.

Los tubos son fabricados en una sola pieza, sin uniones, para asegurar así su uniformidad y precisión dimensional de todos los tubos. Perfecto equilibrio de paredes.
Tubos **autoclavables a 121 °C** y resistentes a la centrifugación hasta **15.000 xg**.

Los siguientes códigos tienen anillos de graduación en su interior:
- 400800 (mod. 2): graduados en 1 / 2,5 / 4 ml.
- 400400 (mod. 5): graduados en 1 / 2,5 / 5 ml.
- 400900 (mod. 7): graduados en 2,5 / 5 / 10 ml.
- 401100 (mod. 9): graduados en 2,5 / 5 ml.

WRITTEN	VERIFIED	AUTHORISED
Gemma Riba Departamento Marketing	Anna Mir Dirección Técnica de Desarrollo y Calidad	Mònica Torras Dirección Ventas y Marketing

FICHA TÉCNICA

Página 122 Catálogo General 2017

Tubos en polipropileno

códigos 400500, 400800, 400800.1, 400700, 400400, 401700, 400900, 400705, 401100

MEDIDAS ±0,09mm

mod.	código	Ø interior	Ø exterior	longitud total	volumen máximo
1	400500	9,9	11,4	53,9	3,4
2	400800	10,3	11,7	73,9	5,3
3	400800.1	10,2	11,7	79,9	5,3
4	400700	10,9	12,7	73,7	6,4
5	400400	10,3	11,9	86,9	5,8
6	401700	11,0	12,7	98,4	8,1
7	400900	13,7	15,5	93,7	11,9
8	400705	13,7	15,8	98,6	12,7
9	401100	13,7	15,5	48,9	6,5

WRITTEN	VERIFIED	AUTHORISED
Gemma Riba Departamento Marketing	Anna Mir Dirección Técnica de Desarrollo y Calidad	Mònica Torras Dirección Ventas y Marketing

ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA TUBO DE ENSAYO 12 X 75 MILIMETROS X 500 PLÁSTICO PP	CÓDIGO: FT-CDC-218
		VERSIÓN: 2
		FECHA: 18/Feb/2024

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
08401	500 Tubos

MATERIAL	
Polipropileno (PP) traslúcido. 	
DIMENSIÓN	• 12 x 75 mm
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Los tubos de ensayo son desechables y se adaptan a la mayoría de las aplicaciones del laboratorio, como lo son, la recolección de muestras, medio de transporte o medio de almacenamiento, entre otras actividades. Los tubos están listos para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipular el tubo y tomar las medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
AUTOCLAVABLE	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
REUSO	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.

COPIA DE DOCUMENTO

ELIMINACIÓN
• Si el tubo tiene contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico. • Si el tubo no tiene contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/Ago/2023	Creación del documento en plantilla de Isolución
2	16/Feb/2024	Se corrige presentación y almacenamiento.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador Control de Calidad **Fecha:** 16/Feb/2024	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador Sistemas Integrados de Gestión **Fecha:** 16/Feb/2024  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista Control de Calidad **Fecha:** 16/Feb/2024	 **Nombre:** Karen Paola Baena Reales **Cargo:** Director Técnico de Reactivos de Diagnóstico Invitro **Fecha:** 18/Feb/2024

COPIA DE DOCUMENTO

ESPECIALIDADES DIAGNÓSTICAS IHR	FICHA TÉCNICA TUBO DE ENSAYO 13 X 75 MILIMETROS X 500 PLÁSTICO PP	CÓDIGO: FT-CDC-002
		VERSIÓN: 1
		FECHA: 18/Feb/2024

FABRICANTE	Jiangsu Huida Medical Instruments Co. Ltd
MARCA	IHR Diagnóstica

CÓDIGO O REFERENCIA	PRESENTACIÓN
10381	500 Tubos

MATERIAL	
Polipropileno (PP) traslúcido.  	
DIMENSIÓN	• 13 x 75 mm
DESCRIPCIÓN / USO PROPUESTO	
Los tubos de ensayo son desechables y se adaptan a la mayoría de las aplicaciones del laboratorio, como lo son, la recolección de muestras, medio de transporte o medio de almacenamiento, entre otras actividades. Los tubos están listos para su uso y no deben reutilizarse, tener en cuenta la posibilidad de daños al manipular el tubo y tomar las medidas de seguridad correspondientes, por ejemplo usando guantes.	
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN	Debe contener la siguiente información: • Nombre del producto • Dimensión o volumen • Cantidad
ALMACENAMIENTO	
Mantener seco y sellado el empaque y evitar exposición a temperaturas extremas.	
ESTERILIZACIÓN	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
AUTOCLAVABLE	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
REUSO	SI ☐ NO ☒ N/A ☐
RECOMENDACIONES	• Para su manipulación usar EPP • No se esperan reacciones peligrosas si se cumplen las condiciones de uso y almacenamiento.

COPIA DE DOCUMENTO

ELIMINACIÓN
• Si el tubo tiene contacto con fluidos, sangre o algún tipo de muestra del paciente, su disposición final será en un recipiente de residuos peligrosos de riesgo biológico. • Si el tubo no tiene contacto con ningún tipo de muestra del paciente, debe tratarse como residuo no peligroso según la normatividad aplicable.

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	16/Feb/2024	Creación del documento en plantilla de Isolución

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
 **Nombre:** Vanessa Milena Solarte Cortez **Cargo:** Coordinador Control de Calidad **Fecha:** 16/Feb/2024	 **Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales **Cargo:** Coordinador Sistemas Integrados de Gestión **Fecha:** 16/Feb/2024  **Nombre:** Aurora Zawadzky Rendon **Cargo:** Analista Control de Calidad **Fecha:** 16/Feb/2024	 **Nombre:** Karen Paola Baena Reales **Cargo:** Director Técnico de Reactivos de Diagnóstico Invitro **Fecha:** 18/Feb/2024

COPIA DE DOCUMENTO

Tubo BD Vacutainer® CON ACD (Citrato Sódico, Acido Cítrico Anhidro y Dextrosa)

Solución ACD-A Citrato Trisódico, 22.0g / L; Acido Cítrico, 8.0 g / L; y Dextrosa 24.5 g / L, 1.5mL. (100/sp, 1000/ca)

Solución ACD-B Citrato Trisódico, 13.2g / L; Acido Cítrico, 4.8 g / L; y Dextrosa 14.7 g / L, 1.0mL. (100/sp, 1000/ca)

Características Generales

- Tubo Vidrio con tapón convencional de color amarillo
- La mezcla ACD conserva los eritrocitos durante 21 días cuando la sangre es almacenada entre 1 y 6 °C
- La relación aditivo/sangre es 1:3,la D-glucosa sirve de nutriente para ser metabolizada por los eritrocitos, y de esta forma permitir su conservación.
- Para estudios morfológicos de las células sanguíneas en procedimientos de Banco de Sangre: HLA fenotipo, DNA y pruebas de paternidad; determinación de Grupo sanguíneo.



Presentación

Número de Catálogo	Aditivo	Presentación/Volumen	Registro Invima
364606	Tubo tapa Amarilla Solución ACD-A	16mm x 100 mm / 8.5 ml	En trámite
364816	Tubo tapa Amarilla Solución ACD-B	13mm x 100mm / 6.0 ml	2007RD-0000304

Becton Dickinson de Colombia Ltda.
Complejo Logístico Industrial de Siberia CLIS. Vereda Vuelta Grande a 150 mts Glorieta Vía Siberia - Cota.
Bodegas 56 y 57.
Cota, Cundinamarca- Colombia. Tel: 7566060

Tubo BD Vacutainer® CON ACD (Citrato Sódico, Acido Cítrico Anhidro y Dextrosa)

Solución ACD-A Citrato Trisódico, 22.0g / L; Acido Cítrico, 8.0 g / L; y Dextrosa 24.5 g / L, 1.5mL. (100/sp, 1000/ca)

Solución ACD-B Citrato Trisódico, 13.2g / L; Acido Cítrico, 4.8 g / L; y Dextrosa 14.7 g / L, 1.0mL. (100/sp, 1000/ca)

Características Generales

- Tubo Vidrio con tapón convencional de color amarillo
- La mezcla ACD conserva los eritrocitos durante 21 días cuando la sangre es almacenada entre 1 y 6 °C
- La relación aditivo/sangre es 1:3,la D-glucosa sirve de nutriente para ser metabolizada por los eritrocitos, y de esta forma permitir su conservación.
- Para estudios morfológicos de las células sanguíneas en procedimientos de Banco de Sangre: HLA fenotipo, DNA y pruebas de paternidad; determinación de Grupo sanguíneo.



Presentación

Número de Catálogo	Aditivo	Presentación/Volumen	Registro Invima
364606	Tubo tapa Amarilla Solución ACD-A	16mm x 100 mm / 8.5 ml	En trámite
364816	Tubo tapa Amarilla Solución ACD-B	13mm x 100mm / 6.0 ml	2007RD-0000304

Becton Dickinson de Colombia Ltda.
Complejo Logístico Industrial de Siberia CLIS. Vereda Vuelta Grande a 150 mts Glorieta Vía Siberia - Cota.
Bodegas 56 y 57.
Cota, Cundinamarca- Colombia. Tel: 7566060

Tubos de Extracción de sangre

Ficha Técnica

Tubo PT

Tubo para PT, que utiliza como anticoagulante citrato de sodio 0,129 mol / L, cuya relación de volumen es 1: 9 respecto al volumen de muestra de sangre. Los tubos para PT se utilizan principalmente para recolectar sangre para pruebas de coagulación, con la ventaja de una alta precisión en la correspondencia entre la proporción de sangre y el anticoagulante.



ESPECIFICACIÓN

- **Color de la tapa:** Azul
- **Muestra:** Plasma o sangre completa
- **Aditivo:** 3.2% de citrato de sodio (1:9)
- **Estatus Aditivo:** Líquido
- **Material:** PET
- **Volumen de tracción normal:**
1.8ml, 2.7ml, 3.6ml, 4.5ml, 5.4ml
- **Condiciones de centrifugación:**
1300-2000g **(RFC). 5-10 min a 18-25°c**
- **Max. Tolerancia:** + - 10%
- **Condiciones de almacenamiento:**
4-25 °C en un ambiente ventilado con humedad relativa menor que 80%
- **Presentación:** Rack x100 und,
Caja master x 1200 und.



REFERENCIA	ADITIVO	PRESIÓN	VOLÚMEN	TAMAÑO
KS018PT-CM	3.2% Citrato de sodio	1018m-1495m	1.8ml	13x75mm
KS027PT-CM		1018m-1495m	2.7ml	13x75mm
KS045PT-CM		1018m-1495m	4.5ml	13x100mm
KS018PT-B		2600m	1.8ml	13x75mm
KS027PT-B		2600m	2.7ml	13x75mm
KS045PT-B		2600m	4.5ml	13x100mm

REGISTRO SANITARIO NO.: INVIMA 2021DM-0024009

FICHA TECNICA

TUBO PARA RECOLECCION DE SANGRE



Tubo tapa Gris
Aditivo: Floruro de sodio/ EDTA K2
Prueba: Hematología

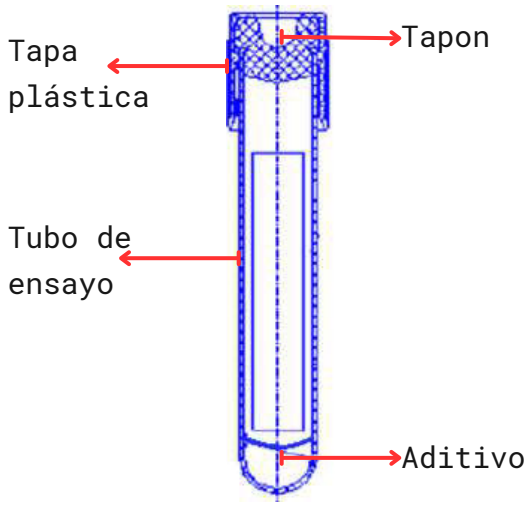
Descripción



El tubo tapa gris esta disponible con aditivo de Fluoruro de Sodio y EDTA K2. Los valores de glucosa en muestras de sangre disminuyen rápidamente después de la recolección a medida que la glucosa es metabolizada por las células sanguíneas, El aditivo de Fluoruro detiene la actividad enzimática de la vía glucolítica, La determinación de HbA1c es una de las ventajas de este tubo, ya que el analito se puede determinar en el mismo tubo junto a los niveles de glucosa y no es necesario tomar una muestra adicional. El EDTA K2 cumple la función de anticoagulante de la muestra

- Esterilidad: por radiación .

Composición



1.Tapa
PE

2. Tapón
Caucho butílico

3. Tubo de ensayo
Plástico PET

4. Aditivo
Fluoruro de Sodio y EDTA K2

REGISTRO SANITARIO:
INVIMA 2021DM-0024009

Especificaciones

Color de la tapa	Aditivo	Muestra	Ref	Volumen de tracción	Tamaño (mm)
Gris	Fluoruro de Sodio/ EDTA K2	Plasma	KS050GL-CM	5ml	13x100

Vida útil

Tubos HYM TEST tienen una vida útil de 2 años para todas sus referencias

---

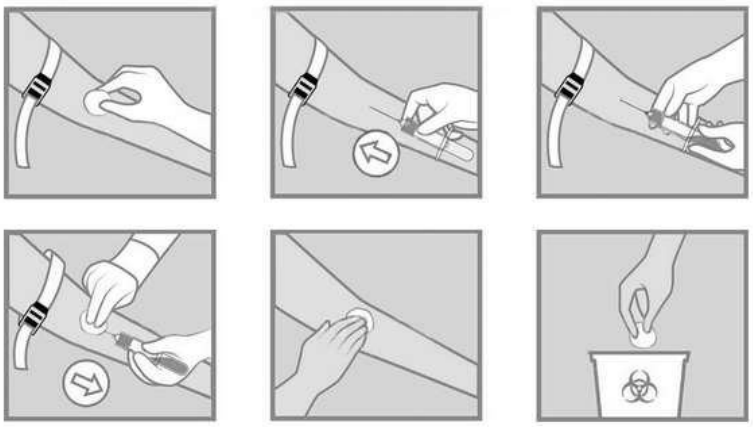
Empaque

Rack x 100 und/ Caja máster x 1.200 und

Condiciones de Almacenamiento

- Temperatura de almacenamiento (4- 30 °C)
- Almacene en un ambiente ventilado con humedad relativa menor que 80%
- Evite la exposición directa a la luz solar

Modo de uso



1. Selección de la vena en la cual se va a realizar la punción.
2. Colocar Torniquete en banda.
3. Realice el procedimiento de asepsia
4. Realizar la venopunción con la aguja Múltiple a un ángulo de aproximado de 30 °C.
5. Tomar la muestra en el tubo seleccionado
6. Una vez recolectado mezclar por inversión de 8-10 veces.
7. Retire la aguja de la vena
8. Descarte la aguja en el guardian y deseche el algodón

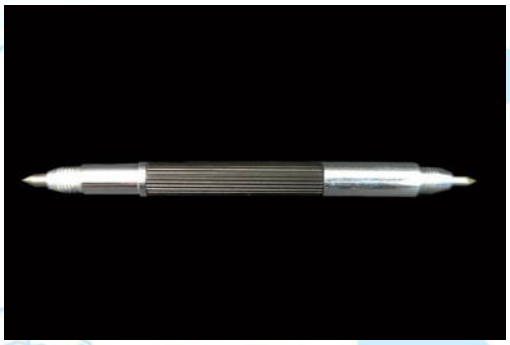
H&M Health and More TEST

REGISTRO SANITARIO:
INVIMA 2021DM-0024009

Laboratorios
OSSALUD S.A.

Ficha técnica Lápiz punta de Diamante

Nombre: Lápiz Punta de Diamante



Estructura principal: Sus componentes son doble punta de diamante por ambos Lados.

Marca: OSS
Referencia: 0299

Empaque primario: x unidad

Función: Su principal función es marcar vidrio.

ÁCIDO ACÉTICO R.A.

REF	Código	Presentación
	00052 00053	100 mL 500 mL

APLICACIÓN
Solvente, componente de soluciones buffer.

CONTENIDO

R 1 **ÁCIDO ACÉTICO (glacial) min 99,8%**
Listo para su uso

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD
- El reactivo debe almacenarse entre 15°C y 30°C. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS
- Inflamable. Provoca quemaduras graves
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones y reactivos.
- Las soluciones y reactivos usados y los caducados deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

General	
Fórmula empírica según (hill)	$C_2H_4O_2$
Formula empírica estructurada	CH3COOH
Densidad	1,05 g/cm^3 (20°c)
Masa molar	60,05 g/mol
Número CAS	64-19-7
Frase R:	R 10-35
Frase S:	S 23,2-26-45

Datos Químicos / Físicos	
Olor	Penetrante
Forma	Líquido
Color	Incoloro
Limite de explosión	4 -19,9 Vol.%
Temperatura de ignición	485°C
Valor pH	2,5 (50 g/L 20°C)
Solubilidad en agua	Soluble (20°C)
Solubilidad en etanol	Soluble
Índice de refracción	1,37 (20°C)
Temperatura de inflamabilidad	39°C
Punto de ebullición	116 -118°C
Punto de fusión	17°C
Presión de vapor	15,4 hPa (20°C)
Viscosidad dinámica	1,22 mPa*s (20°C)
Viscosidad cinemática	1,17 mm^2/s (20°C)
Concentración de saturación (aire)	38 g/m^3 (20°C)

ESPECIFICACIÓN
Ensayo (acidimétrico) min. 99,8%

BIBLIOGRAFÍA

1. Merck KGaA Life Science & Analytics, 64271 Darmstadt / Alemania
2.Hawley, Gessner, Diccionario de quimica y de productos quimicos, Ediciones Omega s.a., Barcelona, 198

Índice de Símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o Código	Σ	Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Limite de Temperatura		Riesgo Biológico		

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: **+(2) 3989788**
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

COLORACIÓN GRAM

Juego de soluciones para coloración diferencial de Gram para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos para la coloración de GRAM se utilizan para realizar tinciones de microorganismos de cultivos o muestras mediante el método diferencial de GRAM.

PRINCIPIO

La tinción de GRAM fue creada en 1884 por Christian Gram con la intención de distinguir las células bacterianas del tejido infectado. Aunque Gram observó lo que ahora se denomina la "reacción de Gram", no reconoció el valor taxonómico de su técnica. La tinción de GRAM ahora se utiliza para diferenciar las bacterias intactas y morfológicamente similares en dos grupos según el color de la célula después de la tinción. Además, se hacen evidentes la forma, el tamaño y los detalles estructurales de la célula. Dicha información preliminar proporciona indicios importantes en cuanto al tipo de organismo u organismos presentes y las técnicas ulteriores necesarias para caracterizarlos. La coloración de GRAM ha constituido un elemento fundamental para la taxonomía e identificación. Las bacterias GRAM positivas que presentan una gruesa capa de peptidoglicano como estructura fundamental por sobre la membrana citoplasmática, y las GRAM negativas, que encima de ésta, presentan una delgada capa de peptidoglicano, a la que se superpone una capa de lipopolisacáridos-lipoproteína, denominada membrana externa. La presencia de esta membrana diferencia actualmente dos divisiones en sistemática bacteriana: las que no lo poseen, Firmicutes (GRAM +) y las que sí, Gracilicutes (GRAM-). Esta coloración permite la clasificación de las bacterias en GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS SEGÚN LA COMPOSICIÓN DE SU PARED CELULAR. Por esto el complejo de color formado con la pared de las bacterias gram positivas no puede ser removido con el agente decolorante que es el alcohol acetona. La célula permanece de color azul violeta, en cambio las bacterias gram negativas, al decolorarse con el alcohol acetona, se dejan colorear con la fucsina ó safranina, quedando de color rosado.

COPIA DE DOCUMENTO

CONTENIDO

R 1 **VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM**
-Listo para su uso
Violeta cristal, amonio oxalato, agua desmineralizadatipo ll.

R 2 **LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM**
-Listo para su uso
Yodo metálico, yoduro de potasio, agua desmineralizada tipo ll

R 3 **ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM**
-Listo para uso
Alcohol etílico al 96%, acetona

R 4 **FUCSINA BÁSICA GRAM**
-Listo para su uso
Fucsina básica, fenol, alcohol etílico al 96%

Alternativa
SAFRANINA GRAM –Listo para su uso
Safranina, Alcohol etílico al 96%

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R3 ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son inflamables, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de tinción
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronómetro o timer

MUESTRAS

Líquidos corporales, exudados, material de colonias líquido o sólido. Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme.
Emulsionar las colonias de un cultivo de 18 – 24 h en solución salina para obtener la densidad adecuada. Dejar que el frotis se seque al aire.
Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la tinción.

NOTA: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una tinción atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

COPIA DE DOCUMENTO

PROCEDIMIENTO

- Cubrir la preparación (Placa) fijada con VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Cubrir la preparación (Placa) con LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Decolorar la placa con ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM Por 15 - 30 segundos hasta que la placa decolore totalmente.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de tinción, decoloración y lavado. Se ha encontrado que el mal uso del ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM en la fase de decoloración puede llegar a decolorar los gérmenes GRAM POSITIVOS.

RESULTADOS PREVISTOS

Microorganismos GRAM Positivos	**Azul-Violeta**
Microorganismos GRAM Negativos	**Rosa-Rojo**

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.

Los controles pueden realizarse con bacterias GRAM Positivas (Staphylococcus aureus) y bacterias GRAM Negativas (Escherichia coli).

Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18-24 horas.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La tinción de GRAM proporciona información de identificación primaria solamente, y no está diseñada para sustituir los estudios de cultivo de la muestra. Los resultados de tinción de GRAM deben confirmarse con procedimientos adicionales tales como análisis directo de antígenos y

cultivos de los medios.

- Cualquier tratamiento anterior con antibióticos puede hacer que organismos grampositivos de una muestra aparezcan como gramnegativos.
- Se aconseja el uso de cultivos de 18 – 24 h para obtener resultados óptimos, dado que las células recientes tienen una mayor afinidad que las células de más antigüedad para la mayoría de los colorantes.
- La reacción de tinción de GRAM se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la tinción de GRAM de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Splengler, M.S., Rodeheaver, G.T., Richter, L., Edgerton, Edlich, R.F.. The Gram stain – The most important diagnostic test of infection. J.Am. College Emergency Physicians 7, 434-438. (1978).
3. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o código	Σ	Pruebas por kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de lote		Fecha de caducidad		Fecha de fabricación
	Límite de temperatura		Riesgo biológico		

COPIA DE DOCUMENTO

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: +(2) 3989788
e-mail:
servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

ANEXOS

- Imprimible

CONTROL DE ACTUALIZACIONES

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/May/2024	Creación en la herramienta de gestión documental (ISOLUCIÓN). Versión anterior 2017-07v5

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
A. Zawadzky	S. Cardona	L. Herrera
Nombre: Aurora Zawadzky Rendon	**Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales	**Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera
Cargo: Analista Control de Calidad	**Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión	**Cargo:** Director Técnico de Dispositivos Médicos - Gerente
Fecha: 02/May/2024	**Fecha:** 21/May/2024	**Fecha:** 30/May/2024
	V. Solarte	K. Baena
	Nombre: Vanessa Milena Solarte Cortez	**Nombre:** Karen Paola Baena Reales
	Cargo: Coordinador Control de Calidad	**Cargo:** Director Técnico de Reactivos de Diagnóstico Invitro
	Fecha: 21/May/2024	**Fecha:** 30/May/2024

COPIA DE DOCUMENTO

COLORACIÓN GRAM

Juego de soluciones para coloración diferencial de Gram para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos para la coloración de GRAM se utilizan para realizar tinciones de microorganismos de cultivos o muestras mediante el método diferencial de GRAM.

PRINCIPIO

La tinción de GRAM fue creada en 1884 por Christian Gram con la intención de distinguir las células bacterianas del tejido infectado. Aunque Gram observó lo que ahora se denomina la "reacción de Gram", no reconoció el valor taxonómico de su técnica. La tinción de GRAM ahora se utiliza para diferenciar las bacterias intactas y morfológicamente similares en dos grupos según el color de la célula después de la tinción. Además, se hacen evidentes la forma, el tamaño y los detalles estructurales de la célula. Dicha información preliminar proporciona indicios importantes en cuanto al tipo de organismo u organismos presentes y las técnicas ulteriores necesarias para caracterizarlos. La coloración de GRAM ha constituido un elemento fundamental para la taxonomía e identificación. Las bacterias GRAM positivas que presentan una gruesa capa de peptidoglicano como estructura fundamental por sobre la membrana citoplasmática, y las GRAM negativas, que encima de ésta, presentan una delgada capa de peptidoglicano, a la que se superpone una capa de lipopolisacáridos-lipoproteína, denominada membrana externa. La presencia de esta membrana diferencia actualmente dos divisiones en sistemática bacteriana: las que no lo poseen, Firmicutes (GRAM +) y las que sí, Gracilicutes (GRAM-). Esta coloración permite la clasificación de las bacterias en GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS SEGÚN LA COMPOSICIÓN DE SU PARED CELULAR. Por esto el complejo de color formado con la pared de las bacterias gram positivas no puede ser removido con el agente decolorante que es el alcohol acetona. La célula permanece de color azul violeta, en cambio las bacterias gram negativas, al decolorarse con el alcohol acetona, se dejan colorear con la fucsina ó safranina, quedando de color rosado.

COPIA DE DOCUMENTO

CONTENIDO

R 1 **VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM**
-Listo para su uso
Violeta cristal, amonio oxalato, agua desmineralizadatipo ll.

R 2 **LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM**
-Listo para su uso
Yodo metálico, yoduro de potasio, agua desmineralizada tipo ll

R 3 **ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM**
-Listo para uso
Alcohol etílico al 96%, acetona

R 4 **FUCSINA BÁSICA GRAM**
-Listo para su uso
Fucsina básica, fenol, alcohol etílico al 96%

Alternativa
SAFRANINA GRAM –Listo para su uso
Safranina, Alcohol etílico al 96%

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R3 ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son inflamables, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de tinción
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronómetro o timer

MUESTRAS

Líquidos corporales, exudados, material de colonias líquido o sólido. Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme.
Emulsionar las colonias de un cultivo de 18 – 24 h en solución salina para obtener la densidad adecuada. Dejar que el frotis se seque al aire.
Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la tinción.

NOTA: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una tinción atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

COPIA DE DOCUMENTO

PROCEDIMIENTO

- Cubrir la preparación (Placa) fijada con VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Cubrir la preparación (Placa) con LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Decolorar la placa con ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM Por 15 - 30 segundos hasta que la placa decolore totalmente.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de tinción, decoloración y lavado. Se ha encontrado que el mal uso del ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM en la fase de decoloración puede llegar a decolorar los gérmenes GRAM POSITIVOS.

RESULTADOS PREVISTOS

Microorganismos GRAM Positivos	**Azul-Violeta**
Microorganismos GRAM Negativos	**Rosa-Rojo**

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.

Los controles pueden realizarse con bacterias GRAM Positivas (Staphylococcus aureus) y bacterias GRAM Negativas (Escherichia coli).

Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18-24 horas.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La tinción de GRAM proporciona información de identificación primaria solamente, y no está diseñada para sustituir los estudios de cultivo de la muestra. Los resultados de tinción de GRAM deben confirmarse con procedimientos adicionales tales como análisis directo de antígenos y

cultivos de los medios.

- Cualquier tratamiento anterior con antibióticos puede hacer que organismos grampositivos de una muestra aparezcan como gramnegativos.
- Se aconseja el uso de cultivos de 18 – 24 h para obtener resultados óptimos, dado que las células recientes tienen una mayor afinidad que las células de más antigüedad para la mayoría de los colorantes.
- La reacción de tinción de GRAM se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la tinción de GRAM de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Splengler, M.S., Rodeheaver, G.T., Richter, L., Edgerton, Edlich, R.F.. The Gram stain – The most important diagnostic test of infection. J.Am. College Emergency Physicians 7, 434-438. (1978).
3. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o código	Σ	Pruebas por kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de lote		Fecha de caducidad		Fecha de fabricación
	Límite de temperatura		Riesgo biológico		

COPIA DE DOCUMENTO

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: +(2) 3989788
e-mail:
servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

ANEXOS

- Imprimible

CONTROL DE ACTUALIZACIONES

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/May/2024	Creación en la herramienta de gestión documental (ISOLUCIÓN). Versión anterior 2017-07v5

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
A. Zawadzky	S. Cardona	L. Herrera
Nombre: Aurora Zawadzky Rendon	**Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales	**Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera
Cargo: Analista Control de Calidad	**Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión	**Cargo:** Director Técnico de Dispositivos Médicos - Gerente
Fecha: 02/May/2024	**Fecha:** 21/May/2024	**Fecha:** 30/May/2024
	V. Solarte	K. Baena
	Nombre: Vanessa Milena Solarte Cortez	**Nombre:** Karen Paola Baena Reales
	Cargo: Coordinador Control de Calidad	**Cargo:** Director Técnico de Reactivos de Diagnóstico Invitro
	Fecha: 21/May/2024	**Fecha:** 30/May/2024

COPIA DE DOCUMENTO

COLORACIÓN GRAM

Juego de soluciones para coloración diferencial de Gram para microscopía

IVD

USO PREVISTO

Los reactivos para la coloración de GRAM se utilizan para realizar tinciones de microorganismos de cultivos o muestras mediante el método diferencial de GRAM.

PRINCIPIO

La tinción de GRAM fue creada en 1884 por Christian Gram con la intención de distinguir las células bacterianas del tejido infectado. Aunque Gram observó lo que ahora se denomina la "reacción de Gram", no reconoció el valor taxonómico de su técnica. La tinción de GRAM ahora se utiliza para diferenciar las bacterias intactas y morfológicamente similares en dos grupos según el color de la célula después de la tinción. Además, se hacen evidentes la forma, el tamaño y los detalles estructurales de la célula. Dicha información preliminar proporciona indicios importantes en cuanto al tipo de organismo u organismos presentes y las técnicas ulteriores necesarias para caracterizarlos. La coloración de GRAM ha constituido un elemento fundamental para la taxonomía e identificación. Las bacterias GRAM positivas que presentan una gruesa capa de peptidoglicano como estructura fundamental por sobre la membrana citoplasmática, y las GRAM negativas, que encima de ésta, presentan una delgada capa de peptidoglicano, a la que se superpone una capa de lipopolisacáridos-lipoproteína, denominada membrana externa. La presencia de esta membrana diferencia actualmente dos divisiones en sistemática bacteriana: las que no lo poseen, Firmicutes (GRAM +) y las que sí, Gracilicutes (GRAM-). Esta coloración permite la clasificación de las bacterias en GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS SEGÚN LA COMPOSICIÓN DE SU PARED CELULAR. Por esto el complejo de color formado con la pared de las bacterias gram positivas no puede ser removido con el agente decolorante que es el alcohol acetona. La célula permanece de color azul violeta, en cambio las bacterias gram negativas, al decolorarse con el alcohol acetona, se dejan colorear con la fucsina ó safranina, quedando de color rosado.

COPIA DE DOCUMENTO

CONTENIDO

R 1 **VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM**
-Listo para su uso
Violeta cristal, amonio oxalato, agua desmineralizadatipo ll.

R 2 **LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM**
-Listo para su uso
Yodo metálico, yoduro de potasio, agua desmineralizada tipo ll

R 3 **ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM**
-Listo para uso
Alcohol etílico al 96%, acetona

R 4 **FUCSINA BÁSICA GRAM**
-Listo para su uso
Fucsina básica, fenol, alcohol etílico al 96%

Alternativa
SAFRANINA GRAM –Listo para su uso
Safranina, Alcohol etílico al 96%

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R3 ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM y la solución R4 FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM son inflamables, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de tinción
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronómetro o timer

MUESTRAS

Líquidos corporales, exudados, material de colonias líquido o sólido. Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme.
Emulsionar las colonias de un cultivo de 18 – 24 h en solución salina para obtener la densidad adecuada. Dejar que el frotis se seque al aire.
Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la tinción.

NOTA: No sobrecalentar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una tinción atípica.

Toda muestra biológica debe se considerada como potencialmente infecciosa.

COPIA DE DOCUMENTO

PROCEDIMIENTO

- Cubrir la preparación (Placa) fijada con VIOLETA CRISTAL (VIOLETA GENCIANA) GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Cubrir la preparación (Placa) con LUGOL SOLUCIÓN YODO/YODURO GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Decolorar la placa con ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM Por 15 - 30 segundos hasta que la placa decolore totalmente.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA BÁSICA GRAM o SAFRANINA GRAM por un (1) minuto.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de tinción, decoloración y lavado. Se ha encontrado que el mal uso del ALCOHOL ACETONA DECOLORANTE GRAM en la fase de decoloración puede llegar a decolorar los gérmenes GRAM POSITIVOS.

RESULTADOS PREVISTOS

Microorganismos GRAM Positivos	**Azul-Violeta**
Microorganismos GRAM Negativos	**Rosa-Rojo**

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.

Los controles pueden realizarse con bacterias GRAM Positivas (Staphylococcus aureus) y bacterias GRAM Negativas (Escherichia coli).

Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18-24 horas.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La tinción de GRAM proporciona información de identificación primaria solamente, y no está diseñada para sustituir los estudios de cultivo de la muestra. Los resultados de tinción de GRAM deben confirmarse con procedimientos adicionales tales como análisis directo de antígenos y

cultivos de los medios.

- Cualquier tratamiento anterior con antibióticos puede hacer que organismos grampositivos de una muestra aparezcan como gramnegativos.
- Se aconseja el uso de cultivos de 18 – 24 h para obtener resultados óptimos, dado que las células recientes tienen una mayor afinidad que las células de más antigüedad para la mayoría de los colorantes.
- La reacción de tinción de GRAM se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la tinción de GRAM de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Gurr,E., Syntethic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
2.Splengler, M.S., Rodeheaver, G.T., Richter, L., Edgerton, Edlich, R.F.. The Gram stain – The most important diagnostic test of infection. J.Am. College Emergency Physicians 7, 434-438. (1978).
3. Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4th edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de símbolos

IVD	Producto para diagnóstico in-vitro	REF	Referencia o código	Σ	Pruebas por kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución consultar las instrucciones		Fabricante
LOT	Número de lote		Fecha de caducidad		Fecha de fabricación
	Límite de temperatura		Riesgo biológico		

COPIA DE DOCUMENTO

ESPECIALIDADES Diagnósticas IHR

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: +(2) 3989788
e-mail:
servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com

ANEXOS

- Imprimible

CONTROL DE ACTUALIZACIONES

VERSIÓN	FECHA	RAZÓN DE LA ACTUALIZACIÓN
1	02/May/2024	Creación en la herramienta de gestión documental (ISOLUCIÓN). Versión anterior 2017-07v5

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
A. Zawadzky	S. Cardona	L. Herrera
Nombre: Aurora Zawadzky Rendon	**Nombre:** Sandra Patricia Cardona Morales	**Nombre:** Luis Fernando Herrera Rivera
Cargo: Analista Control de Calidad	**Cargo:** Coordinador de sistemas integrados de gestión	**Cargo:** Director Técnico de Dispositivos Médicos - Gerente
Fecha: 02/May/2024	**Fecha:** 21/May/2024	**Fecha:** 30/May/2024
	V. Solarte	K. Baena
	Nombre: Vanessa Milena Solarte Cortez	**Nombre:** Karen Paola Baena Reales
	Cargo: Coordinador Control de Calidad	**Cargo:** Director Técnico de Reactivos de Diagnóstico Invitro
	Fecha: 21/May/2024	**Fecha:** 30/May/2024

COPIA DE DOCUMENTO

TUBO BD VACUTAINER® PPT

ADITIVO	PRESENTACION/VOLUMEN	REFERENCIA	REGISTRO INVIMA
Gel EDTA-K2	13mm x 100mm . 5.0 ml	362788	2016DM-0014287

Características Generales



Los tubos PPT se han desarrollado para permitir en un solo paso y en un tubo primario la preparación de plasma no diluido, estandarizando, simplificando el proceso y ofreciendo mayor bioseguridad.

Puede ser empleado en puebas de detección y amplificación de ácidos nucleícos (PCR, bDNA, NASSBA) y carga viral.

- Tubo de plástico al vacio con tapón Hemogard blanco perla.
- Aditivos: 9mg de K_2EDTA seco y gel separador (inerte).
- El volumen de llenado es de 5ml.

LA MUESTRA EN TUBOS PPT

1. Los tubos se almacenan entre 4- 25° C antes de usarse.
2. Luego de la extracción invertir el tubo 8- 10 veces.
3. Tiempo mínimo después de la extracción: Ninguno.
4. Centrifugar a 1100G/ 10min en rotor horizontal.

- La muestra como sangre total se puede conservar dentro de los tubos PPT de 2-6 horas a temperatura ambiente.
- La carga viral en la muestra permanece estable 24 horas a 4oC después de centrifugadas.
- Después de la centrifugación se puede transportar la muestra a temperatura ambiente por 24 horas.

Becton Dickinson de Colombia Ltda.
Complejo Logístico Industrial de Siberia CLIS. Vereda Vuelta Grande a 150 mts Glorieta Vía Siberia – Cota.
Bodegas 56 y 57.
Cota, Cundinamarca- Colombia. Tel: 7566060

TUBO BD VACUTAINER® HEMOGARD 6 ML

ADITIVO	PRESENTACION	VOLUMEN	REFERENCIA
	13mm x 100 mm Tapo Hemogard Plus	6,0 ml	367815

Características Generales



Aditivos: Silicona y activador de coagulo
Etiqueta de papel

Identificación de riesgos
Ninguno

Recomendaciones especiales
Manipulación
Información para una manipulación segura: Mantener los contenedores fuertemente cerrados. Apto para un área general de almacenamiento de químicos.
Información sobre protección contra explosiones y fuego: evitar el contacto con materiales incompatibles, minimizar la generación y acumulación de polvo.

Almacenamiento
Requisitos para áreas de almacenamiento y recipientes: Mantener los contenedores bien cerrados.
Información acerca del almacenamiento en áreas comunes de almacenamiento: Apto para un área general de almacenamiento de químicos.
Información adicional acerca de las condiciones de almacenamiento: Ninguna

FICHA TECNICA

TUBO PARA RECOLECCION DE SANGRE



Tubo tapa Verde
Aditivo: Heparina de Litio/ Sodio
Prueba: Química Clínica y Especiales

Descripción

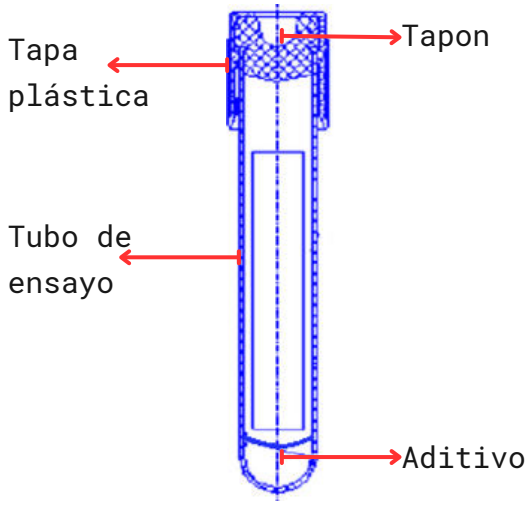


Los tubos de plasma para química clínica están disponibles con heparina de **Litio** y heparina de **Sodio.** La heparina actúa como anticoagulante creando un complejo con la antitrombina III, este complejo inhibe la trombina y el factor X activado y por tanto se previene la coagulación.

Para la química clínica, generalmente se prefiere la heparina de litio. La heparina de Sodio se prefiere para los análisis en plasma de tipo molecular. La concentración de heparina de **Litio** y **Sodio** es equivalente 15 UI/ml.

- Esterilidad: por radiación

Composición



1.Tapa
PE

2. Tapón
Caucho butílico

3. Tubo de ensayo
Plástico PET

4. Aditivo
Heparina de Litio
Heparina de Sodio

REGISTRO SANITARIO:
INVIMA 2021DM-0024009

Especificaciones

Color de la tapa	Aditivo	Muestra	Ref	Volumen de tracción	Tamaño (mm)
Verde	Heparina de Sodio	Plasma	KS050NH-CM	5ml	13x100
	Heparina de Litio		KS050LH-CM	5ml	13x100

Vida útil

Tubos HYM TEST tienen una vida útil de 2 años para todas sus referencias

---

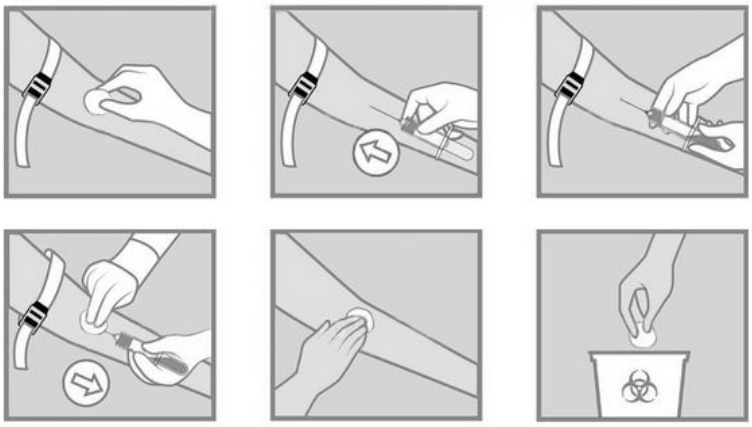
Empaque

Rack x 100 und/ Caja máster x 1.200 und

Condiciones de Almacenamiento

- Temperatura de almacenamiento (4- 30°C)
- Almacene en un ambiente ventilado con humedad relativa menor que 80%
- Evite la exposición directa a la luz solar

Modo de uso



1. Selección de la vena en la cual se va a realizar la punción.
2. Colocar Torniquete en banda.
3. Realice el procedimiento de asepsia
4. Realizar la venopunción con la aguja Múltiple a un ángulo de aproximado de 30 °C.
5. Tomar la muestra en el tubo seleccionado
6. Una vez recolectado mezclar por inversión de 8-10 veces.
7. Retire la aguja de la vena
8. Descarte la aguja en el guardian y deseche el algodón

H&M Health and More TEST

REGISTRO SANITARIO:
INVIMA 2021DM-0024009

FICHA TECNICA

TUBO PARA RECOLECCION DE SANGRE



Tubo tapa Verde
Aditivo: Heparina de Litio/ Sodio
Prueba: Química Clínica y Especiales

Descripción

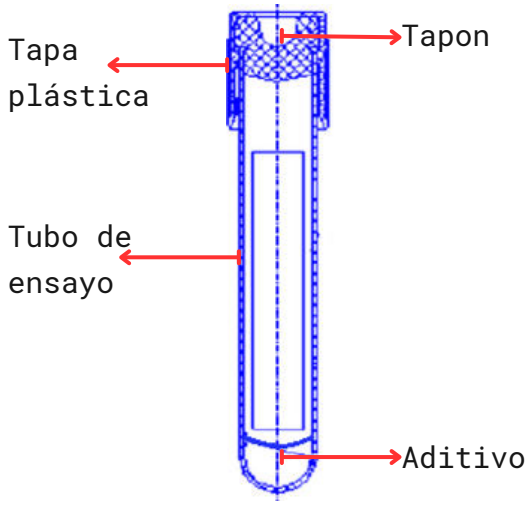


Los tubos de plasma para química clínica están disponibles con heparina de **Litio** y heparina de **Sodio.** La heparina actúa como anticoagulante creando un complejo con la antitrombina III, este complejo inhibe la trombina y el factor X activado y por tanto se previene la coagulación.

Para la química clínica, generalmente se prefiere la heparina de litio. La heparina de Sodio se prefiere para los análisis en plasma de tipo molecular. La concentración de heparina de **Litio** y **Sodio** es equivalente 15 UI/ml.

- Esterilidad: por radiación

Composición



1.Tapa
PE

2. Tapón
Caucho butílico

3. Tubo de ensayo
Plástico PET

4. Aditivo
Heparina de Litio
Heparina de Sodio

REGISTRO SANITARIO:
INVIMA 2021DM-0024009

Especificaciones

Color de la tapa	Aditivo	Muestra	Ref	Volumen de tracción	Tamaño (mm)
Verde	Heparina de Sodio	Plasma	KS050NH-CM	5ml	13x100
	Heparina de Litio		KS050LH-CM	5ml	13x100

Vida útil

Tubos HYM TEST tienen una vida útil de 2 años para todas sus referencias

---

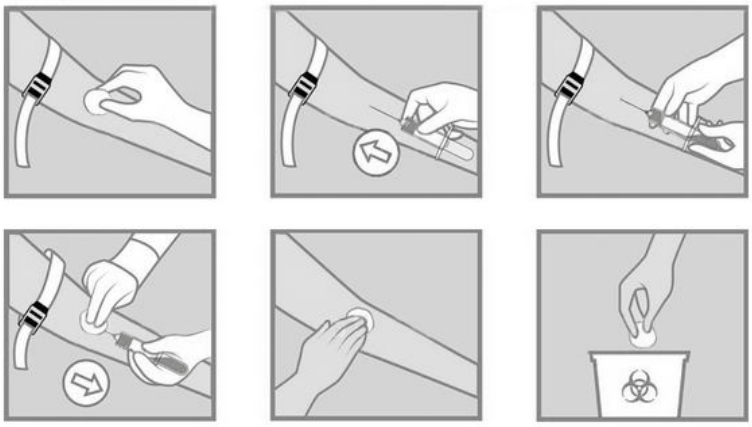
Empaque

Rack x 100 und/ Caja máster x 1.200 und

Condiciones de Almacenamiento

- Temperatura de almacenamiento (4- 30°C)
- Almacene en un ambiente ventilado con humedad relativa menor que 80%
- Evite la exposición directa a la luz solar

Modo de uso



1. Selección de la vena en la cual se va a realizar la punción.
2. Colocar Torniquete en banda.
3. Realice el procedimiento de asepsia
4. Realizar la venopunción con la aguja Múltiple a un ángulo de aproximado de 30 °C.
5. Tomar la muestra en el tubo seleccionado
6. Una vez recolectado mezclar por inversión de 8-10 veces.
7. Retire la aguja de la vena
8. Descarte la aguja en el guardian y deseche el algodón

H&M Health and More TEST

REGISTRO SANITARIO:
INVIMA 2021DM-0024009

Equipo Alado BD Vacutainer®

BD Vacutainer®

Descripción de producto:
Aguja en acero inoxidable estéril para la extracción de sangre al vacío con manguera y conexión a soporte para aguja

Características Generales

- Aguja que se inserta en el paciente conectada a una manguera que permite la visualización de la sangre y que tiene conexión a un soporte donde se colocan los tubos al vació para la extracción de sangre
- Por su paredes delgadas el lumen de la aguja es mas amplio para permitir el flujo de sangre y así disminuir el riesgo de hemólisis
- Protegida por una envoltura en plástico
- Técnica de afilado Precisión Glide™, Tribiselada, la cual produce menor dolor y menor lesion en el tejido garantizando mayor confort en el momento de la punción.
- Las agujas BD Vacutainer tienen un tapón de goma cubriendo el extremo opuesto al que esta en contacto con el paciente previniendo la fuga de sangre dentro del soporte durante la venopunción.
- Posee un sistema de seguridad que encapsula la aguja para prevenir posibles accidentes en los trabajadores de la salud y previniendo su re-uso; el cual se activa una vez a salido la aguja de la vena
- Compatible con todos los sistemas de extracción de sangre al vacío.
- Técnica de esterilización óxido de Etileno
- Vida útil cinco (5) años a partir de su fabricación



Presentaciones

Numero de Catalogo	Calibre	Presentación	Color	Registro Invima
367282	21 G x 3/4 7 " Largo Manguera	Caja por 50 Unds	Verde	2009DM-0003381
367284	23 G x 3/4 7 " Largo Manguera	Caja por 50 Unds	Azul	2009DM-0003381

Becton Dickinson de Colombia Ltda.
Complejo Logístico Industrial de Siberia CLIS. Vereda Vuelta Grande a 150 mts Glorieta Vía Siberia - Cota. Bodegas 56 y 57.
Cota, Cundinamarca- Colombia. Tel: 7566060

Equipo Alado BD Vacutainer®

BD Vacutainer®

Descripción de producto:
Aguja en acero inoxidable estéril para la extracción de sangre al vacío con manguera y conexión a soporte para aguja

Características Generales

- Aguja que se inserta en el paciente conectada a una manguera que permite la visualización de la sangre y que tiene conexión a un soporte donde se colocan los tubos al vació para la extracción de sangre
- Por su paredes delgadas el lumen de la aguja es mas amplio para permitir el flujo de sangre y así disminuir el riesgo de hemólisis
- Protegida por una envoltura en plástico
- Técnica de afilado Precisión Glide™, Tribiselada, la cual produce menor dolor y menor lesion en el tejido garantizando mayor confort en el momento de la punción.
- Las agujas BD Vacutainer tienen un tapón de goma cubriendo el extremo opuesto al que esta en contacto con el paciente previniendo la fuga de sangre dentro del soporte durante la venopunción.
- Posee un sistema de seguridad que encapsula la aguja para prevenir posibles accidentes en los trabajadores de la salud y previniendo su re-uso; el cual se activa una vez a salido la aguja de la vena
- Compatible con todos los sistemas de extracción de sangre al vacío.
- Técnica de esterilización óxido de Etileno
- Vida útil cinco (5) años a partir de su fabricación



Presentaciones

Numero de Catalogo	Calibre	Presentación	Color	Registro Invima
367282	21 G x 3/4 7 " Largo Manguera	Caja por 50 Unds	Verde	2009DM-0003381
367284	23 G x 3/4 7 " Largo Manguera	Caja por 50 Unds	Azul	2009DM-0003381

Becton Dickinson de Colombia Ltda.
Complejo Logístico Industrial de Siberia CLIS. Vereda Vuelta Grande a 150 mts Glorieta Vía Siberia - Cota. Bodegas 56 y 57.
Cota, Cundinamarca- Colombia. Tel: 7566060

Torniquete Pronto BD Vacutainer®

BD Vacutainer®

Descripción de producto:
Instrumento para facilitar la visualización de la vena en pacientes a los cuales se les practicara flebotomía

Características Generales

- Banda elástica con adaptación para ejercer presión el sitio próximo a la punción venosa
- Libre de látex para evitar reacciones alérgicas en los pacientes
- Diseño amigable



Presentaciones				
Numero de Catalogo	**Dimensiones**	**Presentación**	**Color**	**Registro Invima**
367218	3 cm x 40 cm	Caja por 6 Unds	Blanco con diseños	No requiere

No requiere registro Invima por:
- No ser un elemento invasivo.
- No ejercer labor terapéutica.
- Su uso en el paciente es de corta duración.

Becton Dickinson de Colombia Ltda.
Calle 20 C No. 44 – 41 Bogota D. C.
PBX 572 40 60 – 268 30 00