

ZenTech



# ELIZEN Pneumococcus IgG Immunopotency level

ENGLISH (en)








FRANÇAIS (fr)





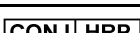



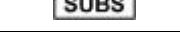

ITALIANO (it)

**ZenTech s.a.**  
Liège Science Park,  
Avenue du Pré-Ailly 10,  
4031 ANGLEUR, Belgium  
Tel. : + 32-(0)4-361.42.32  
Fax : + 32-(0)4-367.00.63

[info@zentech.be](mailto:info@zentech.be)

[www.zentech.be](http://www.zentech.be)

ISO15223	MEDICAL DEVICES SYMBOL	SYMBOLES APPLIQUES AUX DISPOSITIFS MEDICAUX	SIMBOLO DEI DISPOSITIVI MEDICALI
	Storage temperature limitation	Limites de températures	Limite temperatura di conservazione
	Lot number	Numéro de lot	Numero di lotto
	Expiration date	Date d'expiration	Data di scadenza
	Consult operating instructions	Lire les instructions	Consultare le istruzioni di funzionamento
	<i>In vitro</i> diagnostic device	<i>in vitro</i> diagnostic	Dispositivo per diagnostica <i>in vitro</i>
	Manufactured by	Fabriqué par	Fabbricato da
	Catalog number	Référence	Numero catalogo

	SYMBOLS (EDMA recommendations)	SYMBOLES (recommandations EDMA)	SIMBOLI (raccomandazioni EDMA)
	number of determinations (96)	Nombre de déterminations	Numero di determinazioni (96)
	Calibrators	Calibrateur	Calibratore
	Control serum	Sérum de contrôle	Siero di controllo
	Microtiterplate	Microplaque	Piastra per microtitolazione rivestita
	Enzyme conjugate	Conjugué HRP	Anti-hlgG-HRP coniugato
	Sample diluent	Diluant des échantillons	Diluyente per campioni
	Chromogen	Chromogène	Cromogeno
	Substrate buffer	Tampon Substrat	Buffer substrato
	Washing solution to be diluted ten-fold	Solution de lavage concentrée 10 fois	Soluzione di lavaggio da diluire 10 volte
	Blocking reagent	Solution d'arrêt	Reagente bloccante

# ENGLISH

## IMMUNO-ENZYME ASSAY FOR THE DETERMINATION OF ANTIBODIES ANTI-PNEUMOCOCCUS IN HUMAN SERUM AND IN PREPARATIONS OF IMMUNOGLOBULINS

E-DG-96

### CLINICAL APPLICATION

*Streptococcus pneumoniae* is a common host of the oro-pharyngeal flora. Diplococcus Gram positive, its capsule confers it its virulence and antigenicity. Antibodies against the polysaccharidic antigens of the capsule are protective of the infection. The rate of *Streptococcus pneumoniae* carriers, varies from age, season and environment infectious or not. Pneumococcus are the major cause of pneumonia acquired in communities and a frequent source of acute otitis of the middle ear, sinusitis and pharyngitis. Pneumonia, which are caused by pneumococcus, are reported to be the fifth cause of death in the United States (1). In Belgium, the incidence of worrying infections caused by pneumococcus is 20.000 cases/year (2). The rate of antibio-resistant strain grows constantly: in 1997, 10 % of strains resist to penicillin, 23 % to tetracyclin and 28 % to macrolides (3). The mortality rate is evaluated at 2.000 deaths/year.

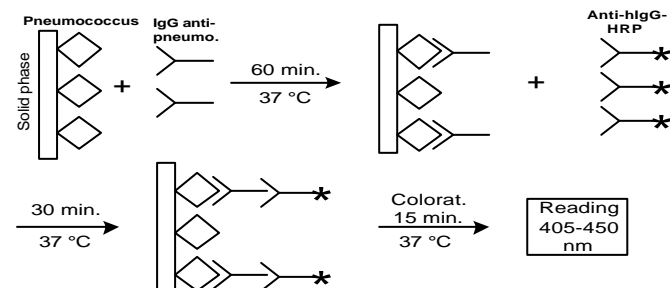
If pneumococcus affect all individuals (70 % of healthy carriers), certain factors predispose to pneumococcus infection like age (below 5 years and over 60), broncho-pneumopathies, certain superior sero-digestive tract cancers, alcoholism, smoking and cardiac insufficiency. Hypo- or asplenyias represent a certain aggravating factor as well as hemopathies (lymphoma, multiples myeloma, child under 5 years drepanocytosis).

The assay allows the detection of antibodies anti-polysaccharidic capsule of the 23 most frequent serotypes (95 % isolated strains in Belgium) (3).

This method allows the detection of antibodies in serums containing low levels (concentration 1.000 times lower than the mean encountered by healthy individuals) and in hyper-immune serums obtained after vaccination.

### PRINCIPLE OF THE ASSAY

The method is based on immuno-enzymatic reaction. Patients serum prior diluted is added into the wells coated with polysaccharid capsule of 23 pneumococcus strains. After carefully washing of the microplate wells, horse radish peroxydase coupled to monoclonal anti-human IgG is added in each well. The monoclonal antibody anti-hlgG-HRP reacts with the complexes adsorbed on the solid phase. After washing, the chromogen solution is added in the wells and incubated. The reaction is stopped, the absorbance, proportional to the concentration of antibodies anti-pneumococcus, is measured at 405 and 450 nm with a spectrophotometer.



### MATERIEL PROVIDED

The ELIZEN Pneumococcus IgG kit contains the reagents needed to carry out 96 determinations.

All the reagents must be kept at 2-8°C. Expiration dates of each reagent are indicated on its labels.

#### 1. Coated microtiterplate

1 microtiterplate of 96 breakable wells coated with a mix of polysaccharid capsule highly purified of 23 types of pneumococcus. After opening, store in the minigrip? bag furnished with a dessicant.

#### 2. Calibrators

7 vials of lyophilized calibrators. These calibrators are produced from a pool of plasma of 6.000 donors. For the exact value, refer to the data sheet included.

Calibrators must be reconstituted with 1 ml of distilled water (stable 2 months after reconstitution). A trouble may appear after reconstitution. The trouble doesn't affect the performance of the assay.

Preservative: Merthiolate.

#### 3. Control Serum

1 vial of 1 ml lyophilized. Control serum must be reconstituted with 1 ml of distilled water (stable 2 months after reconstitution)

A trouble may appear after reconstitution. The trouble doesn't affect the performance of the assay.

Preservative: Merthiolate.

#### 4. Anti-hlgG-HRP conjugate

1 vial of 12 ml of mouse monoclonal antibody anti-human IgG coupled to horse radish peroxydase in Tris-HCl buffer containing bovine albumin, stabilizers and preservatives.

#### 5. Samples diluent

1 vial of 100 ml of Tris-HCl buffer containing casein, stabilizers and preservatives.

A trouble may appear in the buffer due to the presence of casein. This trouble doesn't affect the performance of the assay. The diluent should be thoroughly stirred before use.

Preservative: Merthiolate.

Ready for use.

Store at 2-8 °C. Stable until the expiration date written on the label.

#### 6. Washing solution

1 vial of 25 ml of phosphate buffer containing Tween 20.

If undissolved crystals are present, put them back in solution by placing the vial at 37 °C for a few minutes.

Bring to 250 ml with distilled water.

Preservative: Merthiolate.

The diluted wash solution may be kept at 2-8 °C for 1 month.

#### 7. Substrate buffer

1 vial of 15 ml of phosphate-citrate buffer containing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,03%).

Before use, dilute with an equal volume of chromogen.

#### 8. Chromogen

1 vial of 15 ml of phosphate-citrate buffer containing DMSO and TMB.

Dilute with an equal volume of substrate buffer.

Avoid all exposure to direct light and use the prepared solution within one hour.

#### 9. Stop solution

1 vial of 15 ml of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M.

### KIT REAGENTS

Reagents	Quantity	Physical state
Microtiterplate	1	Ready for use
Calibrators	7 x 1 ml	Lyophilized
Control serum	1 x 1 ml	Lyophilized
Anti-hlgG-HRP conjugate	1 x 12 ml	Ready for use
Samples diluent	1 x 100 ml	Ready for use
Wash solution	1 x 25 ml	Concentrated 10 x
Substrate buffer	1 x 15 ml	Ready for use
Chromogen	1 x 15 ml	Ready for use
Stop solution	1 x 15 ml	Ready for use

## MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Adjustable automatic pipettes with disposable tips.
- Graduated cylinder.
- Distilled water.
- Aspirating pump or microplates washer.
- Spectrophotometer able to read at 450 ,405 and 620 nm.
- Dry Heater, adjustable at 37°C ± 1°C.

## WARNINGS AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use only.

**In order to obtain reproducible results, the following rules must be observed:**

- The assay must be performed after the instructions have been read and understood.
- Let the reagents reach room temperature before opening them.
- Do not mix reagents from different batches.
- Do not use reagents after their expiration dates.
- Use absolutely clean glassware.
- Use distilled water kept in absolutely clean tanks.
- Avoid contaminating the samples. To ensure this, use disposable tips for each sample and reagent.
- Residual amounts of sodium azide (NaN<sub>3</sub>) can destroy the conjugate's enzymatic activity.
- Traces of hypochlorite of soda can destroy many reagents' biological activity.
- Avoid contaminating the TMB and substrate buffer solutions with the conjugate or any other oxidant.
- Do not expose the reagents to direct light during storage or incubation.

**In order to avoid personal and environmental contamination, the following precautions must be observed :**

- Use disposable gloves while handling potentially infectious material and performing the assay.
- Do not pipette reagents by mouth.
- Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics during the assay.
- Chromogenic substrate and Blocking Reagent should be handled with care. Avoid contact with skin, eyes and mucous membranes. In case of accident rinse thoroughly with running water.
- All material of human origin used for the preparation of this kit is tested negative for HBsAg, anti-HIV and anti-HCV. Since no test at present can guarantee complete absence of these viruses, all samples and reagents used for the assay must be considered potentially infectious; therefore, the assay waste must be decontaminated and disposed off, in accordance with established safety procedures. Disposable ignitable material must be incinerated; disposable non-ignitable material must be sterilized in autoclave for at least 1 hour at 121°C.
- Liquid wastes must be added with sodium hypochlorite at a final concentration of 3%. Let the hypochlorite act for at least 30 minutes. Liquid wastes containing acid must be neutralized with appropriate amounts of base before treating with sodium hypochlorite.
- Avoid splashing and aerosol formation; in case of spilling, wash carefully with a 3% sodium hypochlorite solution and dispose of this cleaning liquid as potentially infectious waste.
- Some reagents contain sodium azide as preservative; to prevent build-up of explosive metal azides in lead and copper plumbing, reagents should be discarded by flushing the drain with large amounts of water.

## SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

It is recommended to use serum. Avoid using hemolyzed, lipemic or bacterially contaminated sera. Thoroughly mix thawed specimens before assay and avoid repeated freeze/thawing cycles which may cause loss of antibody activity and give erroneous results.

Samples may be stored at 2°- 8°C for up to 48 hours. For long term storage, samples should be stored frozen at -20°C or lower.

### Sample pre-dilution

Dilute samples 1/51 : 10 µl sample + 500 µl sample diluent  
Then realize from 1/51 dilution the following dilution :  
1/510 : 50 µl 1/51 dilution + 450 µl sample diluent

## ASSAY PROCEDURE

**Let the reagents stabilize at room temperature.**

- 1- Prepare the exact number of wells to perform the calibration curve and the samples dilutions in duplicate.
- 2- Add 100 µl of each calibrator , control serum and of each patients pre-diluted 1/510 in each well.
- 3- Incubate 1 hour at 37 °C.
- 4- Aspirate and wash 3 times with 300 µl of diluted washing.
- 5- Add 100 µl of conjugate anti-hlgG-HRP in each well.
- 6- Incubate 30 minutes at 37 °C.
- 7- Aspirate and wash 3 times with 300 µl of diluted washing.
- 8- Add 200 µl of the chromogen-substrate solution prepared extemporaneously in each well.
- 9- Incubate 15 minutes at 37 °C protected from light.
- 10-Add 100 µl of Blocking solution in each well at the same speed then the add of chromogen-substrate solution.
- 11-Read the absorbance of the wells (450, 405 and 620nm (as reference)). Reading must be completed within 20 minutes from the end of the assay.

## SCHEME OF THE ASSAY

Wells	Calibrator ( 0- 6)	Control serum	Diluted samples
<b>Reagents</b>			
<b>Calibrator ( 0- 6)</b>	100 µl	---	---
<b>Control serum</b>		100 µl	
<b>Diluted samples</b>	---	---	100 µl
- Incubate 1 hour at 37 °C.			
-Aspirate and wash 3 times with 300 µl of washing solution.			
<b>Conjugate anti-hlgG-HRP</b>	100 µl	100 µl	100 µl
-Incubate 30 minutes at 37 °C			
-Aspirate and wash 3 times with 300 µl of washing solution.			
<b>Solution substrate/chromogen</b>	200 µl	200 µl	200 µl
-Incubate 15 minutes at 37 °C and protecting from light.			
<b>Stop Solution</b>	100 µl	100 µl	100 µl
Read : 450 nm – 405 nm and 620 nm as reference.			

## CALCULATION AND INTERPRETATION OF THE RESULTS

In order to obtain a better sensitivity, the present method employs spectrophotometric reading at two wavelengths (450 and 405 nm).

For all O.D. overflow at 450nm, multiplied the O.D. 405nm by the correction factor calculated by the ratio between O.D. 450nm and O.D. 405nm. To establish this factor, used a sample reading at 405nm and 450nm.

Draw a calibration curve on millimetric graph paper, by plotting the calibrators concentration (x-axis) against the absorbance obtained for each calibrator (y-axis).

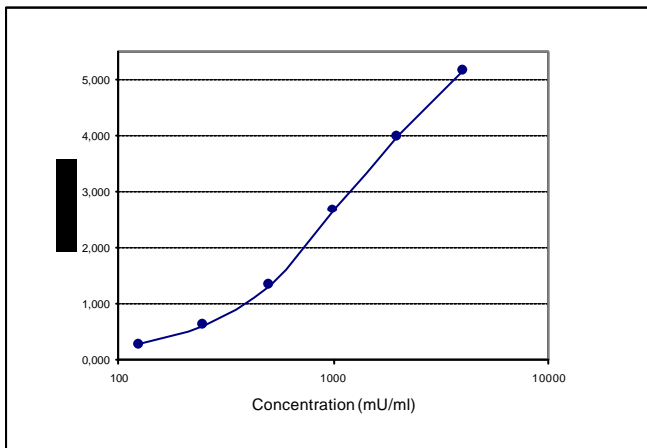
Corresponding anti- pneumococcus concentrations in mU/ml are obtained by interpolating the absorbances of each sample on the calibration curve.

## EXAMPLE OF CALCULATION

The values shown below must be considered as an example and must not be used in place of experimental data.

Description	O.D	B/Bmax (%)	Concentration (mU/ml)
Calibrator 0	0.043	0.8	0
Calibrator 1	0.282	5.5	125
Calibrator 2	0.639	12.4	250
Calibrator 3	1.329	25.8	500
Calibrator 4	2.693	52.3	1000
Calibrator 5	3.980	77.2	2000
Calibrator 6	5.154	100	4000
Control serum	3.165		1280
P1	0.061		25.1
P2	0.745		290
P3	2.735		1035
P4	4.702		2953

## TYPICAL CALIBRATION CURVE



## REFERENCE VALUES

It is recommended that each laboratory determines its own reference interval. Values reported below are only indicative.

The distribution of the values of anti-pneumococcus in a normal population is not gaussian and shows a wide dispersion (see the high standard deviation).

moyenne (mU/ml)	1181.6
écart-type (mU/ml)	1165.8
minimum (mU/ml)	3.0
maximum (mU/ml)	>4000
n	100

### Interpretation of results:

Lower than 250 mU/ml	Deficient in anti-pneumococcus antibodies
----------------------	---

## PERFORMANCES OF THE ASSAY

### SENSITIVITY

The sensitivity was calculated based upon the calibration curve and expressed as the minimal dose showing a significant difference from the Zero calibrator (mean value + 2 S.D.). This dose is 6.9 mU/ml.

### PRECISION

Precision was evaluated upon intra- and inter-assay variability, in 3 sera at different anti-pneumococcus concentrations.

#### Intra-assay

Sample	Mean (mU/ml)	S.D.	C.V. %	Replicates No.
a	260.5	22.9	8.8	20
b	1059.2	42.5	4.0	20
c	2600.1	193.2	7.4	20

#### Inter-assay

Sample	Mean (mU/ml)	S.D.	C.V. %	Assays No.
a	290.4	9.6	3.3	9
b	1026.2	27.7	2.7	9
c	2732.4	31.4	1.1	9

### ACCURACY

Accuracy of the method has been checked by the recovery and parallelism tests:

#### Recovery Test

One prediluted (1:510) sample, mixed with equal volumes of each calibration point, was tested.

Sample	Expected (mU/ml)	Measured (mU/ml)	Recovery %
S1	-	492	-
S1+ cal 0	246	286	116.2
S1+ cal 1	309	307	99.5
S1+ cal 2	371	343	92.5
S1+ cal 3	496	504	101.6
S1+ cal 4	746	741	99.4
S1+ cal 5	1246	1183	95.0
S1+ cal 6	2246	2379	105.9

#### Parallelism Test

One sera with high anti-pneumococcus concentrations was tested at different dilutions with the Zero calibrator.

Dilution	Expected (mU/ml)	Measured (mU/ml)	Recovery %
S1 undiluted	-	2691	100
1/2	1345	1472	109.4
1/4	673	681	101.2
1/8	336	324	96.4
1/16	168	114	68.0

This package insert is downloadable at [www.zentech.be](http://www.zentech.be)

# FRANÇAIS

## DOSAGE IMMUNO-ENZYMATIQUE POUR LA DETERMINATION DES ANTICORPS ANTI-PNEUMOCOQUES LE SERUM HUMAIN ET DANS LES PREPARATIONS D'IMMUNOGLOBULINES .

E-DG-96

### APPLICATION CLINIQUE

*Streptococcus pneumoniae* est un hôte commun de la flore oropharyngée. Diplocoque Gram positif, sa capsule lui confère sa virulence et son antigénicité. Les anticorps dressés contre les antigènes polysaccharidiques de la capsule sont protecteurs de l'infection. Le taux des porteurs de *Streptococcus pneumoniae*, varie selon l'âge, la saison et l'environnement infectieux ou non. Les pneumocoques sont la cause majeure des pneumonies acquises dans les communautés et la source fréquente d'otites aiguës de l'oreille moyenne, de sinusites et de pharyngites. Les pneumonies, dont la majorité des cas sont provoqués par les pneumocoques, sont rapportées comme étant la cinquième cause de décès aux Etats-Unis (1). En Belgique, l'incidence des infections préoccupantes à pneumocoques est de 20.000 cas/an (2). Le taux de souches antibiorésistantes croît constamment : en 1997, 10 % des souches sont résistantes à la pénicilline, 23 % à la tétracycline et 28 % aux macrolides (3). Le taux de mortalité est estimé à 2.000 décès/an.

Si les pneumocoques touchent tous les individus (70 % des porteurs sains), certains facteurs prédisposent à l'infection pneumococcique comme l'âge (en dessous de 5 ans et au-delà de 60 ans), les broncho-pneumopathies, certains cancers des voies séro-digestives supérieures, l'éthylisme et le tabagisme ainsi que l'insuffisance cardiaque. Les hypo- ou asplénies représentent un facteur aggravant certain ainsi que les hémopathies (lymphomes, myélomes multiples, drépanocytose chez les enfants en dessous de 5 ans).

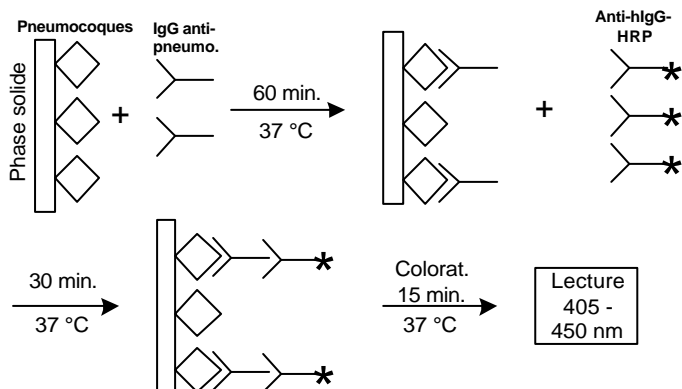
Le test permet de détecter les anticorps anti-polysaccharides de la capsule des 23 sérotypes les plus fréquents (95 % des souches isolées en Belgique) (3).

Cette méthode permet de détecter les anticorps dans les sérums en contenant peu (concentration 1.000 fois moindre que la moyenne rencontrée chez les individus sains) ainsi que dans les sérums hyperimmuns obtenus après vaccination.

### PRINCIPE DU DOSAGE

La méthode est basée sur la réaction immunoenzymatique. Le sérum des patients préalablement dilué est ajouté dans les puits recouverts de polysaccharides capsulaires de 23 souches de pneumocoques. Après avoir lavé soigneusement les puits de la microplaque, de la peroxydase de raifort couplée à un anticorps monoclonal anti-IgG humaines est ajoutée dans chaque puits de la microplaque. L'anticorps monoclonal anti-IgG humaine-HRP réagit avec les complexes adsorbés sur la phase solide.

Après lavages, la solution de chromogène est ajoutée dans les puits de la microplaque et incubée. La réaction est arrêtée, l'absorbance, proportionnelle à la concentration en anticorps anti-pneumocoques, est mesurée à 405 et 450 nm avec un spectrophotomètre.



### MATERIEL FOURNI

La trousse de dosage ELIZEN Pneumococcus IgG contient les réactifs pour réaliser 96 déterminations.

Tous les réactifs doivent être conservés à 2-8°C.

Les dates d'expiration de chaque réactif sont indiquées sur leurs étiquettes respectives.

#### 1. Microplaque

1 microplaque de 96 puits sécables recouverts d'un mélange de polysaccharides capsulaires hautement purifiés de 23 types de pneumocoques.

Après ouverture, conserver dans le sachet minigrif? fourni avec le dessiccant, à l'abri de l'humidité.

#### 2. Calibrateurs

7 flacons de calibrateurs lyophilisés. Ces calibrateurs ont été réalisés à partir d'un pool de plasma de 6.000 donneurs. Pour les valeurs exactes se référer aux données jointes.

Les calibrateurs doivent être réhydratés par 1 ml d'eau distillée (stables 2 mois après réhydratation).

Il est possible qu'un trouble apparaisse après reconstitution. Ce trouble n'affecte pas les performances de la trousse.

Conservateur : Merthiolate.

#### 3. Contrôle

1 flacon de 1 ml lyophilisé.

Le contrôle doit être réhydraté par 1 ml d'eau distillée (stable 2 mois après réhydratation).

Il est possible qu'un trouble apparaisse après reconstitution. Ce trouble n'affecte pas les performances de la trousse.

Conservateur : Merthiolate.

#### 4. Conjugué anti-IgG-HRP

1 flacon de 12 ml d'anticorps monoclonal de souris anti-IgG humaine couplé à la peroxydase de raifort dans un tampon Tris-HCl contenant de l'albumine bovine, des stabilisateurs et des conservateurs.

#### 5. Diluant des échantillons

1 flacon de 100 ml de tampon Tris-HCl contenant de la caséine, des stabilisateurs.

Il est possible que le diluant soit trouble suite à la présence de caséine. Ce trouble n'affecte pas les performances de la trousse.

Agiter manuellement le diluant avant utilisation.

Conservateur: Merthiolate.

#### 6. Solution de lavage

1 flacon de 25 ml de tampon phosphate contenant du Tween 20.

En cas de présence de cristaux non dissous, remettre en solution en mettant le flacon à 37 °C pendant quelques minutes.

Amener à 250 ml avec de l'eau distillée.

Conservateur : Merthiolate.

Conserver la solution de lavage diluée à 2-8 °C pendant 1 mois.

#### 7. Tampon substrat

1 flacon de 15 ml de tampon phosphate-citrate contenant de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,03%).

Avant utilisation, diluer volume à volume avec le chromogène.

#### 8. Chromogène

1 flacon de 15 ml de tampon phosphate-citrate contenant du DMSO et du TMB.

Diluer volume à volume avec le tampon substrat. Eviter toute exposition à la lumière directe et utiliser la solution préparée dans l'heure.

#### 9. Solution Stop

1 flacon de 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M.

### REACTIFS DU KIT

Réactifs	Quantité	Etat physique
Microplaque	1	Prête à l'emploi
Calibrateurs	7 x 1 ml	Lyophilisés
Contrôle	1 x 1 ml	Lyophilisé
Conjugué anti-IgG humaine - peroxydase	1 x 12 ml	Prêt à l'emploi
Diluant échantillons	1 x 100 ml	Prêt à l'emploi
Solution de lavage	1 x 25 ml	Concentrée 10 x
Tampon substrat	1 x 15 ml	Prêt à l'emploi
Chromogène	1 x 15 ml	Prêt à l'emploi
Solution stop	1 x 15 ml	Prêt à l'emploi

## MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Pipettes automatiques réglables avec des embouts jetables.
- Cylindre gradué.
- Eau distillée.
- Pompe aspirante ou laveur de microplaques.
- Spectrophotomètre capable de lire à 405, 450 et 620 nm.
- Chambre d'incubation réglable à 37°C ± 1°C.

## PRECAUTIONS

Pour usage diagnostique *in vitro* uniquement.

### Afin d'obtenir des résultats reproductibles, les règles suivantes doivent être observées :

- le dosage doit être réalisé après lecture et compréhension du mode d'emploi ;
- laisser les réactifs s'équilibrer à température ambiante avant de les ouvrir ;
- ne pas mélanger des réactifs de lots différents ;
- ne pas utiliser des réactifs après leur date de péremption ;
- utiliser de la verrerie parfaitement propre ;
- utiliser de l'eau distillée conservée dans des réservoirs parfaitement propres ;
- éviter toute contamination des échantillons. Pour ce faire, utiliser des embouts jetables pour chaque échantillon et réactif ;
- des quantités résiduelles d'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>) peuvent détruire l'activité enzymatique du conjugué ;
- des traces d'hypochlorite de soude peuvent détruire l'activité biologique de beaucoup de réactifs ;
- éviter toute contamination de la solution de TMB et du tampon substrat avec le conjugué ou tout autre oxydant ;
- ne pas exposer les réactifs à la lumière directe durant leur conservation ou durant l'incubation.

### Afin d'éviter toute contamination personnelle ou de l'environnement, les précautions suivantes doivent être observées ;

- les réactifs contenus dans la trousse sont uniquement destinés à usage *in vitro* et ne peuvent en aucun cas être administrés à des êtres humains ou à des animaux ;
- utiliser des gants jetables lors de l'utilisation de matériel potentiellement infecté et lors de la réalisation du dosage ;
- ne pas pipeter à la bouche ;
- éviter tout contact de réactifs ou d'échantillons avec la peau ou des muqueuses. En cas de contact, laver avec un savon désinfectant et rincer abondamment ;
- ne pas fumer, manger, boire ou se maquiller durant le dosage ;
- tout matériel d'origine humaine utilisé pour la préparation des réactifs de la trousse a été testé et trouvé négatif pour HBsAg, HIV et HCV. Etant donné qu'aucun test ne peut garantir l'absence absolue de ces virus, tous les échantillons et réactifs utilisés lors du dosage doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Tous les déchets produits lors du dosage, doivent être décontaminés et éliminés en respectant les mesures de sécurité. Le matériel jetable combustible doit être incinéré, le matériel jetable non-combustible doit être stérilisé à l'autoclave pendant au moins 1 heure à 121 °C. Il faut ajouter aux déchets liquides de l'hypochlorite de soude de manière à obtenir une concentration finale de 3 % (v/v). Laisser agir l'hypochlorite de soude au moins 30 minutes. Les déchets liquides contenant de l'acide doivent être neutralisés avec la quantité adéquate de base avant traitement à l'hypochlorite de soude. Eviter les éclaboussures et la formation de aérosols, en cas d'éclaboussure, laver soigneusement avec de l'hypochlorite de soude à 3 % (v/v) et traiter ce liquide de lavage comme potentiellement infectieux.
- Les réactifs du dosage qui contiennent de l'azide de sodium ou du thimerosal sont toxiques en cas d'ingestion.

## CONSERVATION ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Il est conseillé de réaliser les analyses avec des échantillons de sérums

Évitez d'employer les sérums hémolysés, lipémiques ou contaminés par des agents microbiens.

Mélangez soigneusement les échantillons dégelés avant l'analyse et évitez les cycles répétés de congélation/décongélation qui peuvent causer la perte d'activité d'anticorps et donner des résultats incorrects.

Les échantillons peuvent être conservés à 2-8°C jusqu'à 48 heures maximum.

Si un délai plus long est prévu, il est conseillé de stocker les sérums à 20°C ou à plus basse température.

## DOSAGE

### DILUTION DES ECHANTILLONS

Diluer les échantillons 1/51 : 10 µl échantillon + 500 µl de tampon de dilution

Réaliser ensuite à partir de la dilution 1/51 une dilution complémentaire :1/510 : 50 µl de la dilution 1/51 + 450 µl de tampon de dilution

### Laisser revenir les réactifs à température ambiante.

- 1- Préparer le nombre de puits nécessaires afin de réaliser la courbe de calibration et les dilutions des échantillons en double.
- 2- Ajouter 100 µl des différents calibrateurs, du contrôle et de la dilution 1/510 des échantillons dans chaque puits.
- 3- Incuber 1 heure à 37 °C.
- 4- Aspirer et laver 3 fois avec 300 µl de la solution de lavage préalablement diluée.
- 5- Ajouter 100 µl de conjugué anti-hlgG-HRP dans chaque puits.
- 6- Incuber 30 minutes à 37 °C.
- 7- Aspirer et laver 3 fois avec 300 µl de la solution de lavage préalablement diluée.
- 8- Ajouter 200 µl de substrat-chromogène, préparé extemporanément dans chaque puits.
- 9- Incuber 15 minutes à 37 °C et à l'abri de la lumière.
- 10- Ajouter 100 µl de solution Stop dans chaque puits au même rythme que l'ajout de la solution de substrat-chromogène.
- 11- Lire immédiatement à 405 et 450 nm sur un spectrophotomètre bichromatique (? référence : 620 nm).

## SCHEMA DU DOSAGE

Puits	Calibrateurs (0-6)	Contrôle	Echantillons dilués
Réactifs			
Calibrateurs (0-6)	100 µl	---	---
Contrôle	---	100 µl	---
Echantillons dilués	---	---	100 µl
	Incuber 1 heure à 37 °C.		
	Aspirer et laver 3 fois avec 300 µl de la solution de lavage.		
Conjugué anti-hlgG-HRP	100 µl	100 µl	100 µl
	Incuber 30 minutes à 37 °C		
	Aspirer et laver 3 fois avec 300 µl de la solution de lavage.		
Solution substrat/chromogène	200 µl	200 µl	200 µl
	Incuber 15 minutes à 37 °C et à l'abri de la lumière.		
Solution Stop	100 µl	100 µl	100 µl
	Lire l'absorbance à 405 , 450 nm et 620 nm comme référence.		

## CALCUL ET INTERPRETATION DES RESULTATS

Afin d'obtenir une meilleure sensibilité , il est nécessaire d'utiliser un spectrophotomètre de microplaques capable de mesurer des absorbances à 405 , 450 et 620 nm.

Pour les D.O. hors des ranges, multiplier la valeur de D.O. obtenue à 405nm par un facteur de correction calculé comme étant le rapport entre la D.O. à 450nm et la D.O. à 405nm. Pour établir ce facteur, utiliser un échantillon « dans les ranges » après lecture à 405nm et à 450nm .Tracer la courbe de calibration sur du papier millimétré en reportant la concentration (axe des X) et l'absorbance obtenue pour chaque calibrateur ( axe des Y).

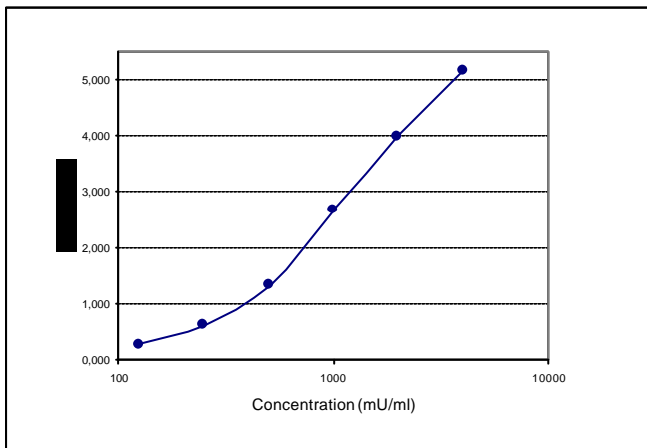
Les concentrations en anticorps anti-pneumocoques (en mU/ml) sont obtenues par interpolation des absorbances de chaque échantillon sur la courbe de calibration.

## EXEMPLE DE CALCUL

Les valeurs ci-après doivent être considérées comme un exemple et ne pas être utilisées en tant que données expérimentales.

Description	D.O.	B/Bmax (%)	Concentration (mU/ml)
Calibrateur 0	0.043	0.8	0
Calibrateur 1	0.282	5.5	125
Calibrateur 2	0.639	12.4	250
Calibrateur 3	1.329	25.8	500
Calibrateur 4	2.693	52.3	1000
Calibrateur 5	3.980	77.2	2000
Calibrateur 6	5.154	100	4000
Contrôle	3.165		1280
P1	0.061		25.1
P2	0.745		290
P3	2.735		1035
P4	4.702		2953

## COURBE DE CALIBRATION TYPE



## VALEURS DE REFERENCE

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres ranges de normalité.

La distribution des valeurs d'anti-pneumocoque dans une population n'est pas gaussienne et présente une large dispersion ( voir l'écart-type).

moyenne (mU/ml)	1181.6
écart-type (mU/ml)	1165.8
minimum (mU/ml)	3.0
maximum (mU/ml)	>4000
n	100

Interprétation des résultats :

Inférieur à 250 mU/ml	Déficient en anticorps anti-pneumocoque
-----------------------	---

## PERFORMANCES DU DOSAGE

### SENSIBILITE

La sensibilité analytique est définie comme étant la plus petite valeur d'absorbance mesurée significativement différente de la valeur d'absorbance obtenue pour le calibrateur zéro. Celui-ci est dosé 20 fois dans un même test. La limite de détection est déterminée comme étant égale à la moyenne des valeurs obtenues plus deux déviations standards. La sensibilité analytique déterminée pour la trousse est égale à 6.9 mU/ml.

### PRECISION

La précision a été évaluée sur la variabilité intra et inter – séries , dans 3 sérums à des concentrations anti-pneumocoque différentes.

#### Intra-dosage

Echantillon	Moyenne (mU/ml)	S.D.	C.V. %	n
a	260.5	22.9	8.8	20
b	1059.2	42.5	4.0	20
c	2600.1	193.2	7.4	20

#### Inter-dosage

Echantillon	Moyenne (mU/ml)	S.D.	C.V. %	n
a	290.4	9.6	3.3	9
b	1026.2	27.7	2.7	9
c	2732.4	31.4	1.1	9

### EXACTITUDE

L'exactitude de la méthode a été vérifiée par les tests de surcharge et de dilutions.

#### Test de surcharge

Un échantillon prédilué (1/510), additionné en égal volume de chaque calibrateur a été testé.:

Echantillon	Attendu (mU/ml)	Mesuré (mU/ml)	Surcharge %
S1	-	492	-
S1+ cal 0	246	286	116.2
S1+ cal 1	309	307	99.5
S1+ cal 2	371	343	92.5
S1+ cal 3	496	504	101.6
S1+ cal 4	746	741	99.4
S1+ cal 5	1246	1183	95.0
S1+ cal 6	2246	2379	105.9

#### Test de dilution

Un échantillon avec une haute concentration en anti-pneumococcus a été testé à différentes dilutions dans le calibrateur zéro.

Dilution	Attendu (mU/ml)	Mesuré (mU/ml)	Recovery %
S1	-	2691	100
1/2	1345	1472	109.4
1/4	673	681	101.2
1/8	336	324	96.4
1/16	168	114	68.0

Ce mode opératoire peut être téléchargé sur notre site [www.zentech.be](http://www.zentech.be)



# ITALIANO

## DOSAGGIO IMMUNOENZIMATICO PER LA DETERMINAZIONE DEGLI ANTICORPI ANTIPNEUMOCOCCO NEL SIERO UMANO E NELLA PREPARAZIONE DELLE IMMUNOGLOBULINE

E-DG-96

### APPLICAZIONE CLINICA

Lo *Streptococcus pneumoniae* è un ospite comune della flora orofaringea. Diplococco Gram positivo, la sua capsula gli conferisce virulenza e antigenicità. Gli anticorpi contro gli antigeni polisaccaridici della capsula proteggono dall'infezione. La percentuale dei portatori dello *Streptococcus pneumoniae* varia in base all'età, alla stagione e all'ambiente infettivo o meno. I pneumococchi sono la principale causa delle polmoniti da comunità e sono frequentemente fonte di otiti acute dell'orecchio medio, sinusiti e faringiti. Le polmoniti da pneumococco risultano essere la quinta causa di morte negli Stati Uniti (1). Nel Belgio, l'incidenza delle infezioni problematiche da pneumococco è pari a 20.000 casi all'anno (2). La percentuale di ceppi resistenti agli antibiotici è in costante aumento. Nel 1997 il 10% dei ceppi resisteva alla penicillina, il 23% alla tetraciclina e il 28% ai macrolidi (3). Il tasso di mortalità è stimato intorno ai 2.000 decessi all'anno.

Se il pneumococco si trova in tutti gli individui (il 70% dei portatori sani) alcuni fattori predispongono alle infezioni da pneumococco, quali l'età (al di sotto dei 5 e al di sopra dei 60 anni), le bronco-pneumopatie, alcuni tipi di cancro del tratto digerente superiore, l'alcolismo, il tabagismo e l'insufficienza cardiaca. L'ipoasplenia oppure l'asplenia rappresenta un fattore aggravante al pari delle emopatie (linfoma, mieloma multiplo, drepanocitosi nei bambini al di sotto dei 5 anni).

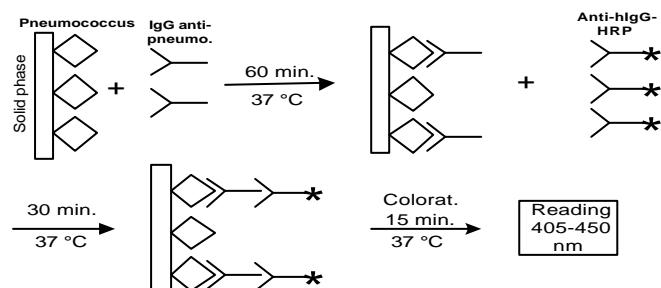
Il test consente di rilevare la capsula anti-polisaccaridica degli anticorpi dei 23 sierotipi più frequenti (il 95% dei ceppi isolati in Belgio) (3).

Questo metodo consente di rilevare gli anticorpi nel siero umano contenenti bassi livelli (concentrazione 1000 volte inferiore rispetto alla media riscontrata in individui sani) e nei siero iperimmuni ottenuti dopo la vaccinazione.

### PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il metodo si basa su una reazione immunoenzimatica. Ai pozzetti rivestiti con capsula polisaccaridica di 23 ceppi di pneumococco viene aggiunto il siero dei pazienti precedentemente diluito. Dopo un accurato lavaggio dei pozzetti della micropiastra, a ciascun pozzetto è stata aggiunta una perossidasi di rafano coniugata con IgG antiumano monoclonale. L'anticorpo monoclonale anti-hIgG-HRP reagisce con i complessi assorbiti sulla fase solida.

Dopo il lavaggio, la soluzione cromogena viene aggiunta nei pozzetti e quindi incubata. La reazione viene arrestata, l'assorbanza, proporzionale alla concentrazione di anticorpi anti-pneumococco, viene misurata, tramite spettrofotometro, a 405 e 450 nm.



### MATERIALE IN DOTAZIONE

Il kit ELIZEN Pneumococcus IgG contiene i reagenti necessari all'esecuzione di 96 determinazioni.

Tutti i reagenti devono essere mantenuti a 2-8°C. Le date di scadenza di ciascun reagente sono riportate sulle rispettive etichette.

#### 1. Piastra per microtitolazione rivestita

1 piastra per microtitolazione con 96 pozzetti rompibili rivestiti con una miscela di capsule polisaccaridiche altamente purificate appartenenti a 23 tipi di pneumococco.

Una volta aperta, conservare nel sacchetto minigrip fornito unitamente a un dessiccante.

#### 2. Calibratori

7 flaconi di calibratori liofilizzati. Questi calibratori vengono prodotti dal plasma ottenuto da 6.000 donatori. Per i valori esatti, riferirsi al Foglio Dati incluso.

I calibratori devono essere ricostituiti con 1 ml di acqua distillata (stabile 2 mesi dopo ricostituzione).

A seguito della ricostituzione potrebbe verificarsi qualche problema. Tale problema non influisce sull'esecuzione del test.

Conservante: Merthiolate

#### 3. Siero di controllo

1 flacone da 1 ml liofilizzato.

Il siero di controllo deve essere ricostituito con 1 ml di acqua distillata (stabile 2 mesi dopo ricostituzione).

A seguito della ricostituzione potrebbe verificarsi qualche problema. Tale problema non influisce sull'esecuzione del test.

Conservante: Merthiolate

#### 4. Coniugato anti-hIgG-HRP

1 flacone da 12 ml di IgG antiumano dell'anticorpo monoclonale di topo coniugato con perossidasi di rafano nel buffer Tris-HCl contenente albumina bovina, stabilizzatori e conservanti.

#### 5. Diluente per campioni

1 flacone da 100 ml di buffer Tris-HCl contenente caseina, stabilizzatori.

Nel buffer potrebbe riscontrarsi qualche problema dovuto alla presenza di caseina. Tale problema non influisce sull'esecuzione del test.

Conservante: Merthiolate

#### 6. Soluzione di lavaggio

1 flacone da 25 ml di buffer fosfato contenente Tween 20.

Nel caso in cui si rilevi la presenza di cristalli non disciolti, riportarli nella soluzione portando per alcuni minuti la fiala a 37 °C.

Allungare fino a 250 ml aggiungendo acqua distillata.

Conservante: Merthiolate

La soluzione di lavaggio diluita può essere mantenuta a 2-8°C per un mese.

#### 7. Buffer substrato

1 flacone da 15 ml di buffer fosfato-citrato contenente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,03%).

Prima dell'uso diluire con un pari volume di cromogeno.

#### 8. Cromogeno

1 flacone da 15 ml di buffer fosfato-citrato contenente DMSO e TMB.

Diluire con un pari volume di buffer di substrato.

Evitare l'esposizione diretta alla luce e utilizzare la soluzione preparata entro un'ora.

#### 9. Soluzione di arresto

1 flacone da 15 ml di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M.

### REAGENTI DEL KIT

Reagenti	Quantità	Stato fisico
Piastra per microtitolazione	1	Pronto per l'uso.
Calibratori	7 x 1 ml	Liofilizzato
Siero di controllo	1 x 1 ml	Liofilizzato
Coniugato anti-hIgG-HRP	1 x 12 ml	Pronto per l'uso
Diluente per campioni	1 x 100 ml	Pronto per l'uso
Soluzione di lavaggio	1 x 25 ml	10 x concentrato
Buffer substrato	1 x 15 ml	Pronto per l'uso
Cromogeno	1 x 15 ml	Pronto per l'uso
Soluzione di arresto	1 x 15 ml	Pronto per l'uso

## MATERIALI RICHIESTI MA NON IN DOTAZIONE

- Pipette automatiche e regolabili con puntali usa e getta.
- Cilindro graduato.
- Acqua distillata.
- Pompa di aspirazione o dispositivo di lavaggio per micropiastre.
- Spettrofotometro in grado di eseguire letture a 450, 405 e 620 nm.
- Riscaldatore a secco, regolabile a 37°C ± 1°C.

## PRECAUZIONI

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.

### Per ottenere risultati riproducibili è necessario osservare le seguenti regole:

- Il dosaggio deve essere eseguito una volta lette e comprese le istruzioni.
- Prima di aprirli, lasciare che i reagenti si portino a temperatura ambiente.
- Non miscelare reagenti provenienti da lotti diversi.
- Non utilizzare reagenti dopo la data di scadenza.
- Utilizzare esclusivamente articoli di vetro puliti.
- Utilizzare acqua distillata, conservata esclusivamente in recipienti puliti.
- Evitare la contaminazione dei campioni. A tal fine utilizzare per ciascun campione e reagente i puntali usa e getta.
- Quantitativi residui di sodio azide (NaN<sub>3</sub>) potrebbero annullare l'attività enzimatica del coniugato.
- Tracce di ipoclorito di sodio potrebbero annullare l'attività biologica di molti reagenti.
- Evitare la contaminazione delle soluzioni buffer di TMB e del substrato con il coniugato o altri ossidanti.
- Non esporre i reagenti alla luce diretta durante la conservazione o l'incubazione.

### Per evitare la contaminazione del personale e dell'ambiente è necessario osservare le seguenti precauzioni:

- I reagenti forniti nel kit sono da utilizzare esclusivamente *in vitro*. In nessun caso potranno essere somministrati ad esseri umani o animali.
- Indossare guanti usa e getta per maneggiare materiali potenzialmente infettivi e per eseguire il test.
- Non pipettare con la bocca.
- Evitare qualsiasi contatto tra i reagenti o i campioni e la pelle o le mucose. In caso di contatto, lavare con sapone disinfettante e risciacquare abbondantemente.
- Non fumare, mangiare, bere o applicare cosmetici durante il test.
- Tutti i materiali di origine umana utilizzati nella preparazione del kit di reagenti sono stati testati e risultati negativi all'HbsAg, HIV e HCV. Dal momento che nessun test è in grado di escludere completamente la presenza di tali virus, tutti i campioni e i reagenti utilizzati nel test dovranno essere considerati come potenzialmente infettivi. Tutti i rifiuti prodotti nel corso del test dovranno essere decontaminati e smaltiti in base alle misure di sicurezza. I materiali usa e getta combustibili devono essere inceneriti; i materiali usa e getta non combustibili devono essere sterilizzati in autoclave per almeno 1 ora a 121°C. L'ipoclorito di sodio deve essere aggiunto ai rifiuti liquidi per ottenere una concentrazione finale pari al 3% (v/v). Lasciare agire l'ipoclorito di sodio per almeno 30 minuti. I rifiuti liquidi contenenti acidi devono essere neutralizzati con la quantità appropriata di base prima di essere trattati con ipoclorito di sodio. Evitare gli spruzzi e la formazione di nebulizzazione. In caso di spruzzi, lavare accuratamente con ipoclorito di sodio al 3% (v/v) e trattare il liquido di lavaggio come liquido potenzialmente infettivo.
- Se ingeriti, i reagenti del dosaggio contenenti sodio azide o thimerosal sono tossici.

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

È consigliato di realizzare i dosaggi con il siero di campioni. Evitare l'uso di sieri emolizzati, lipemici o contaminati da batteri. Prima di eseguire il dosaggio, miscelare accuratamente i campioni scongelati ed evitare ripetuti cicli di congelamento/scongelamento che potrebbero inibire l'attività dell'anticorpo e fornire risultati errati. Conservare i campioni a temperatura ambiente per non oltre 48 ore. In caso di anticipo del ritardo nell'esecuzione del test, conservare i sieri del test ad una temperatura uguale o inferiore a -20°C.

## Prediluizione dei campioni

Diluire i campioni nel rapporto 1/51: 10 µl di campione + 500 µl di diluente per campioni

Dalla diluizione 1/51 realizzare, successivamente, la seguente diluizione:

1/510 : 50 µl di diluizione 1/51 + 450 µl di diluente per campioni

## PROCEDURA DI DOSAGGIO

### Lasciare stabilizzare i reagenti a temperatura ambiente.

- 1- Preparare il numero esatto di pozzetti per eseguire la curva di calibrazione e le diluizioni dei campioni in duplicato.
- 2- Aggiungere a ciascun pozzetto 100 µl di ciascun calibratore, siero di controllo e il campione prediluito 1/510 di ciascun paziente.
- 3- Incubare per 1 ora a 37 °C.
- 4- Aspirare e lavare 3 volte con 300 µl di soluzione di lavaggio diluita.
- 5- Aggiungere a ciascun pozzetto 100 µl di coniugato anti-hlgG-HRP.
- 6- Incubare per 30 minuti a 37 °C.
- 7- Aspirare e lavare 3 volte con 300 µl di soluzione di lavaggio diluita.
- 8- Aggiungere a ciascun pozzetto 200 µl di soluzione di substrato cromogeno preparata estemporaneamente.
- 9- Incubare per 15 minuti a 37 °C al riparo dalla luce.
- 10- Aggiungere alla stessa velocità a ciascun pozzetto 100 µl di soluzione bloccante e aggiungere, successivamente, la soluzione di substrato cromogeno.
- 11- Leggere l'assorbanza dei pozzetti (450, 405 e 620 nm (vedi rif.)). La lettura deve essere completata entro 20 minuti dalla fine del test.

## SCHEMA DEL TEST

Pozzetti	Calibratore (0-6)	Siero di controllo	Campioni diluiti
Reagenti			
Calibratore (0-6)	100 µl	---	---
Siero di controllo		100 µl	
Campioni diluiti	---	---	100 µl
-Incubare per 1 ora a 37 °C. - Aspirare e lavare 3 volte con 300 µl di soluzione di lavaggio.			
Coniugato anti-hlgG-HRP	100 µl	100 µl	100 µl
Pozzetti	Calibratore (0-6)	Siero di controllo	Campioni diluiti
-Incubare per 30 minuti a 37 °C - Aspirare e lavare 3 volte con 300 µl di soluzione di lavaggio.			
Soluzione substrato/cromogeno	200 µl	200 µl	200 µl
-Incubare per 15 minuti a 37 °C al riparo dalla luce.			
Soluzione di arresto	100 µl	100 µl	100 µl
Lettura: 450 nm – 405 nm e 620 nm, come riferimento			

## CALCOLO ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Per ottenere una sensibilità migliore, questo metodo impiega la lettura spettrofotometrica a due lunghezze d'onda 405, 450 e 620 nm. Per le DO fuori range, moltiplicare il valore di DO ottenuto a 405 nm con il fattore di correzione. Questo fattore è calcolato da il rapporto fra la DO a 450 nm et la DO a 405 nm. Per stabilire il fattore, si utilizza un campione con una DO utilizzabile sia a 405 che 450 nm.

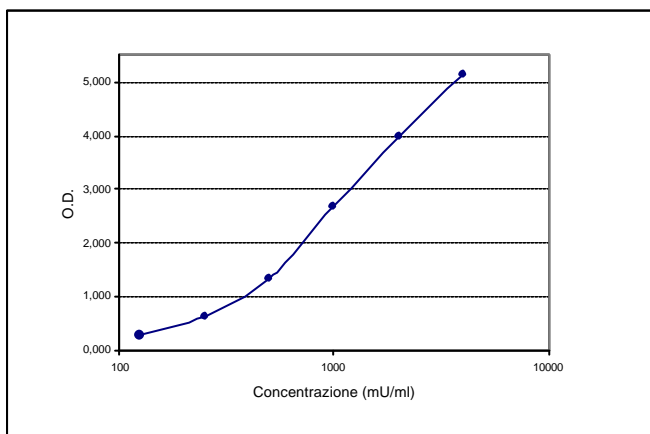
Disegnare su carta millimetrata una curva di calibrazione tracciando il grafico della concentrazione dei calibratori (asse x) rispetto all'assorbanza ottenuta per ciascun calibratore (asse y). Le concentrazioni anti-pneumococco corrispondenti espresse in mU/ml vengono ottenute interpolando le assorbanze di ciascun campione sulla curva di calibrazione.

## ESSEMPIO DI CALCOLO

I valori sotto riportati devono essere considerati unicamente un esempio e non devono essere utilizzati in luogo dei dati sperimentali.

Descrizione	D.O.	B/Bmax (%)	Conc. (mU/ml)
Calibratore 0	0.043	0.8	0
Calibratore 1	0.282	5.5	125
Calibratore 2	0.639	12.4	250
Calibratore 3	1.329	25.8	500
Calibratore 4	2.693	52.3	1000
Calibratore 5	3.980	77.2	2000
Calibratore 6	5.154	100	4000
S. Controllo	3.165		1280
P1	0.061		25.1
P2	0.745		290
P3	2.735		1035
P4	4.702		2953

## CURVA DI CALIBRAZIONE



## VALORI DI RIFERIMENTO

Si raccomanda a ciascun laboratorio di stabilire i propri intervalli di riferimento.

La distribuzione dei valori di antipneumococco nella popolazione non è gaussiana e presenta una grande dispersione (vedere D.S.).

media (mU/ml)	1181.6
D.S. (mU/ml)	1165.8
Minimo (mU/ml)	3.0
maximo (mU/ml)	>4000
n	100

Interpretazione dei risultati :

Inferiore a 250 mU/ml	Deficienza di anticorpi antipneumococco
-----------------------	---

## CARATTERISTICHE METODOLOGICHE

### SENSIBILITÀ'

La sensibilità è stata calcolata in base alla curva di calibrazione ed è espressa come la dose minima significativamente distinguibile dalla risposta del Calibratore Zero (valore medio + 2 D.S.). Tale dose è risultata pari a 6.9 mU/ml.

### PRECISIONE

La precisione è stata determinata misurando la variabilità intra-saggio ed inter-saggio su 3 sieri a differenti concentrazioni di anticorpi antipneumococco.

### Intra-saggio

Siero	Media (mU/ml)	D.S.	C.V. %	n
a	260.5	22.9	8.8	20
b	1059.2	42.5	4.0	20
c	2600.1	193.2	7.4	20

### Inter-saggio

Siero	Media (mU/ml)	D.S.	C.V. %	n
a	290.4	9.6	3.3	9
b	1026.2	27.7	2.7	9
c	2732.4	31.4	1.1	9

## ACCURATEZZA

L'accuratezza del metodo è stata valutata mediante il test di recupero ed il test di parallelismo.

### Test di Recupero

Uno campione prediluito (1/510), mescolato con uguale volume di ogni calibratore e stato dosato.

Siero	Atteso (mU/ml)	Misurato (mU/ml)	Recupero %
S1	-	492	-
S1+ cal 0	246	286	116.2
S1+ cal 1	309	307	99.5
S1+ cal 2	371	343	92.5
S1+ cal 3	496	504	101.6
S1+ cal 4	746	741	99.4
S1+ cal 5	1246	1183	95.0
S1+ cal 6	2246	2379	105.9

### Test di Parallelismo

Uno sierio ad elevato contenuto di antipneumococco è stato dosato a varie diluizioni con il Calibratore Zero.

Diluizione	Atteso (mU/ml)	Misurato (mU/ml)	Recupero %
S1	-	2691	100
1/2	1345	1472	109.4
1/4	673	681	101.2
1/8	336	324	96.4
1/16	168	114	68.0

È possibile scaricare questo foglietto illustrativo al seguente indirizzo [www.zentech.be](http://www.zentech.be)

## **BIBLIOGRAPHY – BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAFIA**

1. Peetermans W. Pneumokokkenvaccinatie in België in 1996 en 1997, Tijdschr. Voor Geneeskunde, 1998 ; 54 (17) : p. 1196-1200.
2. Vandepitte J. Who is afraid of the pneumococcus ?, Acta Clinica Belgica, 1993 ; 48 (3) : p 143-147.
3. Verhaegen J., Glupczynski Y., Verbist L., Blogie M., Verbiest M., Vandeven J and Yourassowsky E. Capsular types and antibiotic susceptibility of pneumococci isolated from patients in Belgium with serious infections, 1980-1993, Clinical Infectious Diseases, 1995 ; 20 : p. 1339-1345.