



CHORUS

MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034 (36 tests)

Prodotto da/Manufactured by/Fabricado por/
 Произведено от/Proizvodi / Tootja / Pagamino /
 Wyprodukowany przez / Proizvaja:
DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) – Italy

	Capitolo Section Kapitola Kapitel Κεφάλαιο Capítulo Chapitre Capítulo Capitol Peatükk Rozdział Odsek Skyrius
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Změny zavedené v aktuální revizi In der aktuellen Revision eingeführte Änderungen Αλλαγές που εισάγονται στην τρέχουσα αναθεώρηση Cambios introducidos en la revisión actual Changements introduits dans la révision actuelle Alterações introduzidas na revisão atual Modificări introduse în actuala revizuire Praeguses versioonis tehtud muudatused Zmiany wprowadzone w aktualnej wersji Spremembe, uvedene v trenutni reviziji Pakeitimai, pateikti dabartinėje redakcijoje	1 – 2 – 3 – 4 – 6 – 8 – 10



INDICE / INDEX / ÌNDICE / ИНДЕКС / INDEKS / INDEKS / SPIS TREŚCI / KAZALO

1. UTILIZZAZIONE / INTENDED USE / INDICACIONES / UTILIZAÇÃO / ИСПОЛЗВАЙТЕ / KORIŠTENJE / KASUTA / NAUDOJIMAS / ZASTOSOWANIE / UPORABA
2. INTRODUZIONE / SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST / RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST / INTRODUÇÃO / ВЪВЕДЕНИЕ / UVOD / SISSEJUHATUS / ĮVADAS / WPROWADZENIE / UVOD
3. PRINCIPIO DEL METODO / PRINCIPLE OF THE TEST / PRINCIPIO DEL MÉTODO / PRINCÍPIO DO MÉTODO / ПРИНЦИП НА МЕТОДА / NAČELO METODE / MEETODI PÕHIMÕTE / METODO PRINCIPAS / ZASADA METODY / NAČELO METODE
4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI / KIT CONTENTS AND REAGENT PREPARATION / COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO / COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES / СЪСТАВ НА КОМПЛЕКТА И ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТ / SASTAV KOMPLETA I PRIPREMA REAGENSA / KOMPLEKTI KOOSTIS JA REAGENTIDE VALMISTAMINE / RINKINIO SUDĖTIS IR REAGENTŲ PARUOŠIMAS / SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW / SESTAVA KOMPLETA IN PRIPRAVA REAGENTOV
5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI / STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS / CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS / MODALIDADES DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES / СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАКТИВИТЕ / NAČIN ČUVANJA I STABILNOST REAGENSA / REAGENTIDE SÄILITAMINE JA STABIILSUS / REAGENTŲ LAIKYMAS IR STABILUMAS / PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW / NAČIN SHRANJEVANJA IN STABILNOST REAGENTOV
6. PRECAUZIONI / PRECAUTIONS / PRECAUCIONES DE USO / PRECAUÇÕES / ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ / MJERE OPREZA / ETTEVAATUST / ATSARGUMO PRIEMONĖS / ŚRODKI OSTROŻNOŚCI / PREVIDNOSTNI UKREPI
7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE / TYPE AND STORAGE OF SAMPLE / TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACION / TIPO DE AMOSTRA E CONSERVAÇÃO / ВИД НА ПРОБАТА И СЪХРАНЕНИЕ / VRSTA UZORAKA I ČUVANJE / PROOVIDE TÛÜP JA SÄILITAMINE / MĖGINIO TIPAS IR LAIKYMAS / RODZAJ PRÓBK I JEJ PRZECHOWYWANIE / VRSTA VZORCA IN SHRANJEVANJE
8. PROCEDIMENTO / TEST PROCEDURE / PROCEDIMENTO / MODO DE PROCEDER / ПРОЦЕДУРА / POSTUPAK / PROTSEDUUR / PROCEDŪRA / PROCEDURA / POSTOPEK
9. VALIDAZIONE DEL TEST / TEST VALIDATION / VALIDACIÓN DEL TEST / VALIDAÇÃO DO TESTE / ВАЛИДИРАНЕ НА ТЕСТА / VALIDACIJA TESTA / TESTI VALIDEERIMINE / TYRIMO PATVIRTINIMAS / WALIDACJA BADANIA / VALIDACIJA TESTA
10. INTERPRETAZIONE DEL TEST / INTERPRETATION OF RESULTS / INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS / INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS / ТЪЛКУВАНЕ НА ТЕСТА / TUMAČENJE TESTA / TESTI TÖLGENDAMINE / TYRIMO AIŠKINIMAS / INTERPRETACJA BADANIA / RAZLAGA TESTA
11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA / LIMITATIONS OF THE PROCEDURE / LIMITACIONES / LIMITES DO TESTE / ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА / OGRANIČENJA POSTUPKA / PROTSEDUURI PIIRANGUD / PROCEDŪROS APRIBOJIMAI / OGRANICZENIA PROCEDURY / OMEJITVE POSTOPKA
12. SPECIFICITA' ANALITICA / ANALYTICAL SPECIFICITY / ESPECIFICIDAD ANALÍTICA / ESPECIFICIDADE ANALÍTICA / АНАЛИТИЧНА СПЕЦИФИЧНОСТ / ANALITIČKA

SPECIFIČNOST / ANALÜÜTILINE SPETSIIFILISUS / ANALITINIS SPECIFIŠKUMAS /
SWOISTOŚĆ ANALITYCZNA / ANALITIČNA SPECIFIČNOST

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA / DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY / SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO / SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA / ДИАГНОСТИЧНА ЧУВСТВТЕЛНОСТ И СПЕЦИФИЧНОСТ / DIJAGNOSTIČKA OSJETLJIVOST I SPECIFIČNOST / DIAGNOSTILINE TUNDLIKKUS JA SPETSIIFILISUS / DIAGNOSTINIS JAUTRUMAS IR SPECIFIŠKUMAS / CZUŁOŚĆ I SWOISTOŚĆ DIAGNOSTYCZNA / DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST IN SPECIFIČNOST
14. PRECISIONE / PRECISION / REPRODUCIBILIDAD / PRECISÃO / ПРЕЦИЗНОСТ / PRECIZNOST / TĀPSUS / TIKSLUMAS / PRECYZJA / NATANČNOST
15. BIBLIOGRAFIA / REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA / БИБЛІОГРАФІЯ / BIBLIOGRAFIJA / BIBLIOGRAAFIA / BIBLIOGRAFIJA / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIJA



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

DETERMINAZIONE SEMIQUANTITATIVA DEGLI ANTICORPI IgG ANTI MYCOPLASMA NEL SIERO UMANO CON DISPOSITIVO MONOUSO APPLICATO AGLI STRUMENTI CHORUS E CHORUS TRIO

2. INTRODUZIONE

Mycoplasma pneumoniae è il più comune agente eziologico di polmonite acquisita in comunità specialmente in età compresa dai 5 ai 30 anni; può essere responsabile di epidemie che si sviluppano lentamente poiché il periodo di incubazione varia da 10 a 14 giorni e il contagio coinvolge contatti ravvicinati o gruppi segregati (scuole, caserme, nuclei familiari). La polmonite da Mycoplasma è anche detta polmonite atipica primaria o polmonite dell'agente di Eaton.

M. pneumoniae attacca e distrugge le cellule epiteliali ciliate della mucosa del tratto respiratorio. Microscopicamente causa polmoniti interstiziali, bronchiti e bronchioliti.

Nei casi di polmonite, data la ricorrenza dei sintomi per vari agenti eziologici, mezzi diagnostici aggiuntivi come i test sierologici si rendono necessari per la diagnosi di infezione acuta.

La risposta immunitaria, a seguito di infezione da Mycoplasma pneumoniae, risulta essere legata al tipo stesso di infezione: gli anticorpi di classe IgM sono presenti più frequentemente nei casi di infezione primaria come dimostra la loro riscontrabilità nei pazienti più giovani. Nei pazienti più adulti e con maggiore probabilità di reinfezione, le IgM sono basse o non riscontrabili; per contro le IgA risultano il marker di maggiore sensibilità nelle infezioni in atto, nelle reinfezioni, o infezioni recenti.

Gli anticorpi specifici di classe A compaiono in maniera precoce, a inizio della malattia e raggiungono titoli elevati nelle prime 4 settimane, per poi decadere in modo repentino prima delle IgG, permettendo la diagnosi di infezione acuta anche con un singolo prelievo. Le IgG compaiono dopo le IgM ed IgA, mediamente raggiungono il picco massimo nella 5° settimana. Un titolo alto, accompagnato da un aumento significativo tra due prelievi a distanza di circa 2 settimane permette di confermare la presenza di un'infezione in corso.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

L'antigene Mycoplasma, sonicato e solubilizzato, viene legato alla fase solida. Per incubazione con siero umano diluito le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti IgG umane coniugate con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.

Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

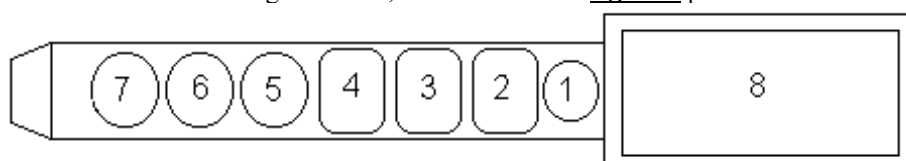
I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus/Chorus TRIO. Il risultato è espresso in AU/ml calcolate in riferimento a una curva standard interna.

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

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



Descrizione:

Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA sensibilizzato con antigene del *Mycoplasma pneumoniae*.

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

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

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO dove l'utilizzatore deve dispensare il siero indiluito.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.425 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin e Gentamicina, liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin e Gentamicina, liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO.

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

5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

6. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Attenzione:

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento CHORUS/CHORUS TRIO.
2. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
 - a) Il coniugato contiene fenolo
 - b) Il substrato è acido

Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.

3. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti è normalmente sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
4. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e la integrità del dispositivo stesso, non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale dello strumento
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale d'uso Chorus).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
8. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
9. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, o campioni che presentano inquinamento microbico.
10. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus/Chorus TRIO accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
11. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
12. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

Il campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio. Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Dopo scongelamento agitare con cura prima del dosaggio. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati errati.

Campioni fortemente lipemici, itterici, emolizzati o inquinati non dovrebbero essere utilizzati.

Il test non è applicabile a plasma umano.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prendere il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 6 Avvertenze Analitiche punti 1 e 8.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero indiluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce un risultato semiquantitativo in AU/mL, mediante curva (lotto dipendente) memorizzata dallo strumento.

Il grado di immunità del siero in esame può essere interpretato come segue:

IMMUNE: quando la concentrazione di IgG nel campione è >18 AU/mL

NON IMMUNE: se la concentrazione è < 12 AU/mL

DUBBIO/EQUIVOCO: quando la concentrazione è nel range 12-18 AU/mL

Titolo	Interpretazione dei risultati		Risultato CHORUS
> 40 AU/mL	Titolo alto	Titolo compatibile con infezione da M.pneumoniae in corso o recente	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Titolo moderato	L'interpretazione può essere fatta solo dopo un altro prelievo a distanza di 8-15 giorni.	P
≤ 18 AU/mL ≥12 AU/mL	Titolo basso		D/E
< 12 AU/mL	Titolo non significativo		N

Lo strumento segnala > quando le AU/mL sono superiori a 100 AU/mL; in questo caso diluire il campione con Sample Diluent/Negative Control [REF] 83607 (e.g. 1 :3) e ripetere il test. Il risultato dovrà essere moltiplicato per la diluizione impiegata.

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

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Un risultato negativo non esclude un'infezione da Mycoplasma: in caso di sospetto clinico ripetere il prelievo a distanza di 15 giorni.

Sieri prelevati durante la fase acuta dell'infezione possono risultare positivi solamente agli anticorpi della classe IgM. Si consiglia quindi di determinare anche il livello delle IgM utilizzando il kit Mycoplasma IgM (ref 81035). Alternativamente, si analizzerà un secondo campione prelevato 8-14 giorni più tardi, per verificare un eventuale aumento delle IgG.

Il risultato del test deve essere comunque valutato insieme a dati provenienti dalla storia del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

La presenza nel campione di potenziali interferenti come PCR, Bilirubina, Fattore Reumatoide, Emolisi e Trigliceridi non influenza il risultato del test.

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

Sono stati analizzati 61 campioni, di cui 42 sono risultati positivi e 19 negativi con il kit Chorus in confronto con un altro kit in commercio. I risultati discordanti sono stati analizzati con Western Blot considerato di riferimento. I campioni dubbi sono stati considerati positivi. Il kit Diesse ha dato 2 risultati falsi positivi.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente :

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Totale	40	21	61

Sensibilità 100.0 % CI_{95%}: 91.2 to 100.0

Specificità 90.5 % CI_{95%}: 71.1 to 97.3

14. PRECISIONE**Tabella 1. Precisione all'interno della seduta**

	Numero di repliche	Media AU/ml	D.S.	CV%
Lot. no. 475	9	61.0	2.80	4.6
Lot. no. 459	9	45.3	4.90	10.8
Lot. no. 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabella 2. Precisione tra sedute e tra lotti

Campione	Media AU/ml			Media	D. S.	CV%
	Lot 475	Lot 459	Lot 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(English)

1. INTENDED USE

SEMIQUANTITATIVE DETERMINATION OF IgG-CLASS ANTIBODIES TO MYCOPLASMA IN HUMAN SERUM, USING A DISPOSABLE DEVICE APPLIED ON THE CHORUS/CHORUS TRIO INSTRUMENTS

2. INTRODUCTION

Mycoplasma pneumoniae is the most common etiological agent causing pneumonia acquired in community environments, particularly in the age range of 5 to 30 years; it can cause epidemics which develop slowly as the incubation period varies from 10 to 14 days, and the infection involves subjects living in close contact or in segregated groups (schools, military barracks, family groups). Pneumonia caused by Mycoplasma is also known as atypical primary pneumonia or Eaton's pneumonia.

Mycoplasma pneumoniae attacks and destroys ciliated epithelial cells of the respiratory tract mucosa. Microscopic examination evidences interstitial pneumonia, bronchitis and bronchiolitis.

Due to the recurrence of symptoms caused by different etiological agents, additional diagnostic measures such as serological tests are necessary for the diagnosis of an acute pneumonia infection.

The immune response, following a Mycoplasma pneumoniae infection, depends on the type of infection: the IgM-class antibodies are more frequently found in case of primary infections as demonstrated by their presence in younger patients. The IgM are low or not found in older patients with higher probability of reinfection. On the other hand the IgA represent the highest sensitivity marker in case of an infection in progress, a reinfection or a recent infection.

Specific IgA-class antibodies appear early during the infection and reach peak levels during the first 4 weeks, then declining quite rapidly, earlier than the IgG; diagnosis of an acute infection can often be made on the basis of a single sample test. The IgG appear after the IgM and IgA and they generally reach the peak level during the 5th week. A high titer together with a significant increase between two samples taken approximately 2 weeks apart, confirms that an infection is in progress.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

The sonicated, solubilized Mycoplasma antigen is bound to the solid phase. Specific immunoglobulins bind to the antigen through incubation with diluted human serum. After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation with the conjugate (anti-human IgG monoclonal antibodies conjugated with horse radish peroxidase) is performed. The conjugate which has not been bound is eliminated and the peroxidase substrate added.

The blue colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the test serum.

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

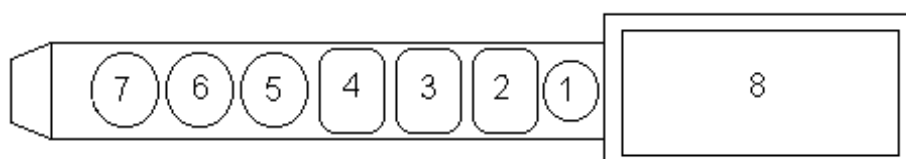
The results are expressed in AU/ml calculated in reference to an internal standard curve.

4. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

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



Description:

Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: empty

Position 6: MICROPLATE WELL coated with *Mycoplasma pneumoniae* antigen

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE.

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

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

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL in which the operator must place the undiluted serum

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.425 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin, **liquid ready for use.**

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin, **liquid ready for use.**

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

5. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening and/or preparation

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

6. PRECAUTIONS**ONLY FOR DIAGNOSTIC USE IN VITRO.****Attention:**

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

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

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS/CHORUS TRIO instrument.
2. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:

- a) The conjugate contains phenol
- b) The substrate is acid

If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.

3. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
4. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical precautions

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

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Chorus Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument
7. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
8. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapours during storage and use.
9. The use of strongly hemolyzed samples, or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
10. Before inserting the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
11. Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
12. Do not use the device after the expiry date

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C, and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples should be avoided.

The test cannot be applied to plasma.

8. PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in the Analytical Warnings points 1 and 8.
3. Dispense 50 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Chorus Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the control serum to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the operating manual. If the instrument signals that the control serum has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument gives a semiquantitative result in AU/mL, calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument.

The degree of immunity of the test serum can be interpreted as follows:

IMMUNE: when the IgG concentration in the sample is >18 AU/mL

NOT IMMUNE: if the concentration is < 12 AU/mL

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: when the concentration is in the range 12-18 AU/mL

Titer	Interpretation of the results		CHORUS Result
> 40 AU/mL	High titer	Titer compatible with a recent or current <i>M.pneumoniae</i> infection	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Moderate titer	The interpretation is only possible with a new collection of sample after 8-15 days.	P
≤ 18 AU/mL ≥12 AU/mL	Low titer		D/E
< 12 AU/mL	Not significant titer		N

When the sign > appears on the instrument the AU/mL are over 100 AU/mL; in this case dilute the sample in Sample Diluent/Negative Control [REF] 83607 (e.g. 1:3) and repeat the test. The result must be multiplied by the dilution used. If the result is doubtful/equivocal, repeat the test. If it remains doubtful/equivocal, collect a new serum sample.

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

A negative result does not exclude a *Mycoplasma* infection: in case of clinical suspect collect a new sample after 15 days.

Serum samples collected during the acute phase of the infection can give a positive result to IgM antibodies only. It is suggested to determine the *Mycoplasma* IgM level using the *Mycoplasma* IgM kit (REF 81035).

Alternatively, a second serum sample obtained 8-14 days later, should be tested in parallel to determine an increase in the IgG antibody level.

The test result should be used in conjunction with information available from the evaluation of the case history or other diagnostic procedures.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

The presence in the serum sample of potentially interfering substances such as Reactive Protein C, bilirubin, rheumatoid factor, haemolysis and triglycerides does not interfere with the test.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

61 samples were tested, 42 of which were positive and 19 negative with the Chorus kit in comparison with another commercial method. The discordant samples were tested using Western Blotting considered as reference. Doubtful samples were considered positive. The Diesse kit gave 2 false positive results.

The results are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Total	40	21	61

Sensitivity 100.0 % CI_{95%}: 91.2 to 100.0

Specificity 90.5 % CI_{95%}: 71.1 to 97.3

14. PRECISION**Table 1. Within-run precision**

	No. of replicates	Mean AU/ml	S. D.	CV%
Lot. no. 475	9	61.0	2.80	4.6
Lot. no. 459	9	45.3	4.90	10.8
Lot. no. 504	9	37.4	4.84	12.9

Table 2. Between-run and between-lots precision

Sample	Mean AU/ml			Mean	S. D.	CV%
	Lot 475	Lot 459	Lot 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. REFERENCES

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(CS)

1. ÚČEL POUŽITÍ

SEMIKVANTITATIVNÍ STANOVENÍ PROTILÁTEK TŘÍDY IgG PROTI MYKOPLASMATU V LIDSKÉM SÉRU POMOCÍ JEDNORÁZOVÉHO NÁSTROJE APLIKOVANÉHO DO ZAŘÍZENÍ CHORUS/CHORUS TRIO

2. ÚVOD

Mycoplasma pneumoniae je nejběžnějším etiologickým agens způsobujícím pneumonii v prostředí komunity, zvláště u věkových skupin mezi 5 a 30 lety. Může způsobovat epidemie, které se pomalu rozvíjejí, protože se inkubační doba pohybuje od 10 do 14 dní, infekce napadá subjekty žijící v blízkém kontaktu nebo v separovaných skupinách (školy, vojenské kasárny, rodiny). Pneumonie způsobená mykoplasmatem je také známá jako atypická primární pneumonie nebo Eatonova pneumonie.

Mycoplasma pneumoniae napadá a ničí řasnaté epitelové buňky sliznice dýchacího ústrojí. Analýza mikroskopem svědčí o intersticiální pneumonii, bronchitidě a bronchiolitidě.

Protože působením různých etiologických agens mají příznaky tendenci se vracet, jsou při diagnóze akutní plicní infekce nezbytná další diagnostická opatření jako serologické testy.

Imunitní odezva po infekci *Mycoplasma pneumoniae* závisí na typu infekce: protilátky třídy IgM se nejčastěji nacházejí u primárních infekcí, jak dokazuje jejich přítomnost u mladších pacientů. U starších pacientů s vyšší pravděpodobností opakované infekce je hladina IgM protilátek nízká nebo nulová. Na druhou stranu představují IgA protilátky marker s největší citlivostí v případě probíhající infekce, opakované infekce nebo nedávné infekce.

Specifické protilátky třídy IgA se objevují brzy během infekce a dosahují nejvyšší hladiny během prvních 4 týdnů, poté vcelku rychle klesají, dříve než IgG protilátky. Diagnózu akutní infekce lze často provést na základě testování jediného vzorku. IgG protilátky se objevují po IgM a IgA protilátkách a obecně dosahují nejvyšší hladiny během 5. týdne. Vysoký titer spolu s významným nárůstem mezi dvěma vzorky sebranými přibližně ve dvoutýdenním odstupu potvrzuje, že infekce právě probíhá.

3. PRINCIP METODY

Test je založen na principu ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

Ultrazvukem ošetřený a solubilizovaný antigen mykoplasmatu je navázán na pevnou fázi. Na antigen se prostřednictvím inkubace s naředěným lidským sérem naváží specifické imunoglobuliny. Po promytí, při kterém dojde k eliminaci bílkovin, které nereagovaly, se provede inkubace s konjugátem (anti-lidské monoklonální IgG protilátky konjugované s křenovou peroxidázou). Dochází k odstranění nevázaného konjugátu a přidání peroxidázového substrátu. Vzniklé modré zabarvení je úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných v testovaném séru.

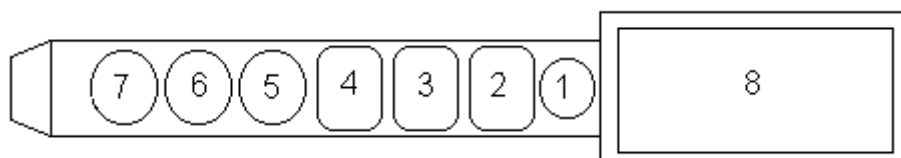
Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty nutné k provedení testu pomocí zařízení Chorus/Chorus TRIO. Výsledky jsou vyjádřeny v AU/ml vypočítaných na základě interní standardní křivky.

4. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava stačí na 36 testů.

DD NÁSTROJ 6 balení po 6 nástrojích

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



Popis:

Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná.

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA potažená antigenem mykoplasmatu (*Mycoplasma pneumoniae*).

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT.

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

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

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

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: peroxidázou značené monoklonální protilátky proti lidským IgG ve fosfátovém pufru obsahujícím fenol 0.05% a Bronidox 0.02%.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM 1 x 0.425 mL

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

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

5. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Po otevření nebo přípravě mají reagencie omezenou stabilitu.

NÁSTROJE 8 týdnů při teplotě 2–8°C.

POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM 8 týdnů při teplotě 2–8°C.

KALIBRÁTOR 8 týdnů při teplotě 2–8°C.

6. UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Pozor:

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykazaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomna, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: S použitými vzorky sér, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními zbytky a likvidovat v souladu s platnou legislativou.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy. Při nakládání se vzorky mějte vždy nasazené jednorázové rukavice a ochranu očí. Po umístění nástrojů do zařízení CHORUS/CHORUS TRIO si vždy důkladně umyjte ruce.

2. Následující reagenty obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých substancí:
 - a) konjugát obsahuje fenol,
 - b) substrát je kyselina.
 Příklad-li jakákoliv reagenty do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
3. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
4. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevrháváte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

1. **Nástroje, které vykazují modrou barvu substrátu (jamka 4), zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen; nástroje, ve kterých chybí reagenty, nepoužívejte.
4. Nástroje jsou určeny pro použití se zařízením Chorus/Chorus TRIO; je třeba pečlivě dodržovat návod na použití a řídit se příručkou k obsluze nástroje.
5. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus/Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení Chorus).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně.
8. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
9. Použití silně hemolyzovaných vzorků nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
10. Než do zařízení Chorus/Chorus TRIO nástroje vložíte, ujistěte se, že reakční jamka neobsahuje cizí tělesa.
11. Testované sérum (50 µl) pipetujte do jamky 1 nástroje (viz obrázek).
12. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.

7. TYP A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

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

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

Test není možné aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

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

9. POTVRZENÍ TESTU

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

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus/Chorus TRIO vyjadřuje výsledek semikvantitativně v AU/ml vypočítaný na základě grafu příslušnému dané šarži, který je součástí zařízení.

Míru imunity testovaného séra lze interpretovat takto:

IMUNNÍ: je-li koncentrace IgG ve vzorku > 18 AU/mL

NEIMUNNÍ: je-li koncentrace < 12 AU/mL

SPORNÝ/NEJASNE: je-li koncentrace v rozmezí 12–18 AU/mL

Titř	Interpretace výsledků		CHORUS výsledek
> 40 AU/mL	Vysoký titř	Titř odpovídá nedávné nebo probíhající infekci <i>M. pneumoniae</i> .	P
≤ 40 AU/mL > 18 AU/mL	Mírný titř	Interpretace je možná pouze na základě sběru nového vzorku po uplynutí 8–15 dní.	P
≤ 18 AU/mL ≥ 12 AU/mL	Nízký titř		D/E
< 12 AU/mL	Nevýznamný titř		N

Objeví-li se na zařízení symbol >, přesahuje AU/ml hodnotu 100 AU/mL. V tomto případě ředte vzorek v ředidle vzorků/negativní kontrole REF 83607 (např. 1:3) a test zopakujte. Výsledek je třeba vynásobit použitým ředěním.

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

11. OMEZENÍ PROCEDURY

Negativní výsledek nevylučuje *Mycoplasma* infekci: Existuje-li klinické podezření, seberte za 15 dní vzorek nový.

Vzorky sér sebrané v průběhu akutní fáze infekce mohou dát pozitivní výsledek pouze na IgM protilátky. Proto doporučujeme pomocí soupravy *Mycoplasma* IgM (REF 81035) stanovit množství *Mycoplasma* IgM.

Alternativně je také možné sebrat za 8–14 dní nový vzorek séra, testovat jej souběžně a stanovit nárůst množství IgG.

Výsledek testu je třeba vždy interpretovat společně s informacemi získanými ze záznamů daného případu a dalších diagnostických procedur.

12. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Přítomnost potenciálně rušivých substancí ve vzorku séra, jako jsou reaktivní protein C, bilirubin, revmatický faktor, hemolýza a triglyceridy, nemá na test žádný vliv.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFIČNOST

Soupravou Chorus a další srovnávací komerční metodou bylo otestováno 61 vzorků, z nichž 42 bylo pozitivních a 19 negativních. Rozporné vzorky byly testovány referenčním testem Westernblot. Sporné vzorky byly považovány za pozitivní. Souprava Diesse vykazala 2 falešně pozitivní výsledky.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Celkem	40	21	61

Citlivost 100.0 % CI_{95%}: 91.2 až 100.0

Specifičnost 90.5 % CI_{95%}: 71.1 až 97.3

14. PŘESNOST**Tabulka 1. Přesnost v rámci testu**

	Počet replikátů	Průměr AU/ml	Stand. odchylka	CV%
Šarže 475	9	61.0	2.80	4.6
Šarže 459	9	45.3	4.90	10.8
Šarže 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabulka 2. Přesnost mezi testy a mezi šaržemi

Vzorek	Mean AU/ml			Průměr	Stand. odchylka	CV%
	Šarže 475	Šarže 459	Šarže 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. GLOSÁŘ POUŽITÝCH SYMBOLŮ

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

16. POUŽITÁ LITERATURA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(Deutsch)

1. VERWENDUNGSZWECK

SEMIQUANTITATIVE BESTIMMUNG DER ANTI-MYCOPLASMA-IgG-ANTIKÖRPER IM HUMANSERUM MIT EINEM EINWEG-TESTMODUL, DAS IN KOMBINATION MIT CHORUS/CHORUS TRIO LABORANALYSATOREN VERWENDET WIRD.

2. EINLEITUNG

Mycoplasma pneumoniae ist der häufigste ätiologische Erreger der ambulant erworbenen Pneumonie, vor allem im Alter zwischen 5 und 30 Jahren; er kann für Epidemien verantwortlich sein, die sich langsam entwickeln, weil die Inkubationszeit zwischen 10 und 14 Tagen variiert. Die Ansteckung erfolgt über engen Kontakt oder in abgegrenzten Gruppen (Schulen, Kasernen, Familien). Die Pneumonie durch Mycoplasma wird auch atypische primäre Pneumonie oder Pneumonie durch Eaton-Agent genannt.

M. pneumoniae greift die Zilien der Epithelzellen der Schleimhaut des Respirationstrakts an und zerstört sie. Mikroskopisch verursacht M. pneumoniae interstitielle Pneumonie, Bronchitis und Bronchiolitis.

Bei Fällen von Pneumonie sind aufgrund der Symptome durch verschiedene ätiologische Erreger zusätzliche diagnostische Mittel, wie serologische Tests, für die Diagnostik der akuten Infektion erforderlich.

Die Immunreaktion in Folge einer Infektion durch Mycoplasma pneumoniae ist an den Typ der Infektion gebunden: Die Antikörper der Klasse IgM sind meistens bei Fällen von Erstinfektion anzutreffen. Das erklärt, warum sie hauptsächlich bei jüngeren Patienten zu finden sind. Bei erwachsenen Patienten mit einer größeren Wahrscheinlichkeit der Reinfektion sind die IgM-Antikörper in geringer Zahl oder gar nicht vorhanden; hingegen sind die IgA-Antikörper Marker mit höherer Sensivität bei aktueller Infektion, Reinfektionen oder kürzlich erfolgten Infektionen.

Die spezifischen Antikörper der Klasse A treten zu einem frühen Zeitpunkt, zu Beginn der Krankheit auf und erreichen in den ersten 4 Wochen hohe Werte, um danach sofort vor den IgG-Antikörpern abzusinken, wodurch die Diagnostik der akuten Infektion auch mit einer einzigen Entnahme möglich ist. Die IgG entwickeln sich nach den IgM und IgA und erreichen den Spitzenwert durchschnittlich in der 5. Woche. Ein hoher Wert zusammen mit einem deutlichen Anstieg zwischen zwei Entnahmen, die in einem Abstand von ungefähr zwei Wochen erfolgen, erlaubt die Bestätigung der Präsenz einer aktuellen Infektion.

3. TESTPRINZIP

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

Das sonizierte und gelöste Mycoplasma-Antigen wird an die Festphase gebunden. Durch die Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen Anti-human-IgG-Antikörpern. Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.

Die Intensität der blauen Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.

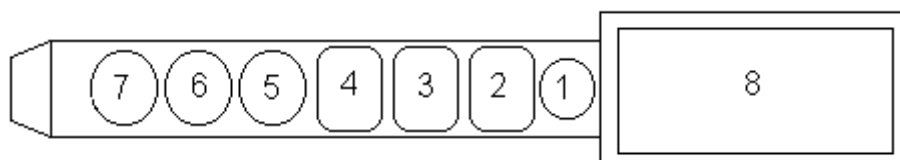
Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus/Chorus TRIO. Laboranalysator durchführen zu können. Das Ergebnis wird in AU/ml ausgedrückt, die unter Bezugnahme auf eine interne Standardkurve berechnet werden.

4. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

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

**Beschreibung:**

Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG, die mit *Mycoplasma pneumoniae*-Antigen sensibilisiert wurde

Position 5: nicht sensibilisierte MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Position 4: TMB SUBSTRAT

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

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

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

Position 2: KONJUGAT

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

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.425 mLInhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin, flüssig, gebrauchsfertig**CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.425 mL**Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin, flüssig, gebrauchsfertig**WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL**

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

5. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

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

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

6. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Achtung:

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

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den CHORUS/CHORUS TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
2. Die folgenden Reagenzien enthalten geringe Konzentrationen schädlicher oder reizender Substanzen:
 - a) Das Konjugat enthält Phenol
 - b) Das Substrat ist sauer
 Wenn ein Reagenz mit der Haut oder mit den Augen in Berührung kommt, diese mit reichlich Wasser spülen.
3. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit ist normalerweise für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichend.
4. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit gereinigt werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Reinigung von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

1. **Kontrollieren, ob das Substrat in der Vertiefung 4 farblos ist. Das Testmodul aussortieren, wenn es dieser Eigenschaft nicht entspricht.**
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
5. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Chorus Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden.
8. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
9. Stark hämolytische oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
10. Vor dem Einsetzen des Testmoduls in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sicherstellen, dass sich in der Reaktionsvertiefung keine Fremdkörper befinden.
11. Das zu untersuchende Serum (50 µl) in die Vertiefung 1 des Testmoduls pipettieren (siehe Abbildung).
12. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

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

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

Der Test ist nicht bei humanem Plasma anwendbar.

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.

2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 6 Warnhinweise zur Analyse, Punkte 1 und 8, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu untersuchenden, unverdünnten Serums geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert ein in AU/ml ausgedrücktes, semiquantitatives Ergebnis in Form einer Kurve (chargenabhängig), die vom Analysator gespeichert wird.

Der Immunitätsgrad des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

IMMUN: IgG-Konzentration in der Probe >18 AU/ml

NICHT IMMUN: Konzentration <12 AU/ml

GRAUZONE/MEHRDEUTIG: Konzentration im Bereich zwischen 12 und 18 AU/ml

Wert	Interpretation der Ergebnisse		Ergebnis CHORUS
>40 AU/ml	Hoher Wert	Mit einer aktuellen oder kürzlich erfolgten M. pneumoniae Infektion kompatibler Wert	P
≤40 AU/ml >18 AU/ml	Mäßiger Wert	Die Interpretation ist erst nach einer weiteren Entnahme im Abstand von 8–15 Tagen möglich.	P
≤18 AU/ml ≥12 AU/ml	Niedriger Wert		D/E
<12 AU/ml	Vernachlässigbarer Wert		N

Der Laboranalysator zeigt > an, wenn die AU/ml mehr als 100 AU/ml betragen; in diesem Fall die Probe mit Sample Diluent/Negative Control (Probenverdünnungsmedium/Negative Kontrolle, REF 83607) verdünnen (z.B. 1:3) und den Test wiederholen. Das Ergebnis muss entsprechend der verwendeten Verdünnung mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt bzw. mehrdeutig ist. Bleibt das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig, die Probenahme wiederholen.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Ein negatives Ergebnis schließt eine Mycoplasma-Infektion nicht aus: Bei klinischem Verdacht die Entnahme im Abstand von 15 Tagen wiederholen.

Es ist möglich, dass Seren, die während der akuten Phase der Infektion entnommen werden, nur in Bezug auf die Antikörper der Klasse IgM ein positives Ergebnis liefern. Es wird daher empfohlen, auch die Menge der IgM mit Hilfe des Testsatzes Mycoplasma IgM (REF 81035) zu bestimmen. Als Alternative dazu kann eine 8–14 Tage später entnommene zweite Probe analysiert werden, um zu prüfen, ob die IgG-Antikörper angestiegen sind.

Das Testergebnis muss in jedem Fall zusammen mit den Daten der Patientengeschichte bzw. anderer diagnostischer Untersuchungen beurteilt werden.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Die Präsenz von potentiellen Interferenten in der Serumprobe (PCR, Bilirubin, Rheumafaktor, Hämolyse und Triglyceride) hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

13. DIAGNOSTISCHE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Es wurden 61 Proben analysiert, von denen mit dem Testsatz Chorus 42 ein positives und 19 ein negatives Ergebnis brachten. Sie wurden mit einem im Handel erhältlichen Testsatz verglichen. Die nicht übereinstimmenden Ergebnisse wurden mit der Western Blot-Methode, die als Referenz betrachtet wird, analysiert. Die Proben mit einem Ergebnis in der Grauzone wurden als positiv bewertet. Der Testsatz Diesse hat 2 falsch positive Ergebnisse geliefert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Insgesamt	40	21	61

Sensitivität 100.0 % CI_{95%}: 91.2–100.0

Spezifität 90.5 % CI_{95%}: 71.1–97.3

14. PRÄZISION

Tabelle 1. Präzision innerhalb eines Durchlaufs

	Anzahl der Parallelproben	Mittelwert AU/ml	SD	CV%
Chargenr. 475	9	61.0	2.80	4.6
Chargenr. 459	9	45.3	4.90	10.8
Chargenr. 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabelle 2. Präzision zwischen Durchläufen und Chargen

Probe	Mittelwert AU/ml			Mittelwert	SD	CV%
	Charge 475	Charge 459	Charge 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. SYMBOLERKLÄRUNG

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

16. LITERATUR

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(Ελληνικά)

1. ΧΡΗΣΗ

ΗΜΠΙΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ IgG ANTI-MΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΜΕ ΔΙΑΤΑΞΗ ΜΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ ΟΡΓΑΝΑ CHORUS/CHORUS TRIO

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μυκόπλασμα πνευμονίας είναι ο πλέον κοινός αιτιολογικός παράγοντας της επίκτητης πνευμονίας σε κοινότητες ειδικά σε ηλικία από 5 έως 30 ετών, μπορεί να είναι υπεύθυνος για επιδημίες που αναπτύσσονται αργά καθώς η περίοδος της επώασης κυμαίνεται από 10 έως 14 ημέρες και στη λοίμωξη εμπλέκονται στενές επαφές ή ξεχωριστές ομάδες (σχολεία, στρατώνες, νοικοκυριά). Η πνευμονία από μυκόπλασμα καλείται επίσης πρωτογενής άτυπη πνευμονία ή πνευμονία του συνδρόμου Eaton.

Το μυκόπλασμα πνευμονίας (*M. pneumoniae*) προσβάλλει και καταστρέφει τα τριχωτά επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου του αναπνευστικού συστήματος. Μικροσκοπικά προκαλεί διάμεσες πνευμονίες, βρογχίτιδα και βρογχολίτιδα.

Στις περιπτώσεις πνευμονίας, λόγω της επανεμφάνισης των συμπτωμάτων για διάφορους αιτιολογικούς παράγοντες, πρόσθετα διαγνωστικά μέσα, όπως επιπλέον οι αναλύσεις του ορού του αίματος είναι απαραίτητα για τη διάγνωση της οξείας λοίμωξης.

Η ανοσολογική απόκριση στη λοίμωξη από το μυκόπλασμα της πνευμονίας εξαρτάται από τον τύπο της λοίμωξης: τα αντισώματα τάξης IgM εμφανίζονται πιο συχνά σε περιπτώσεις πρωτοπαθούς λοίμωξης, όπως αποδεικνύει η συχνότητα ανίχνευσής τους σε νεότερους ασθενείς. Σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας, όπου η πιθανότητα επαναλοίμωξης είναι μεγαλύτερη, τα αντισώματα IgM είναι χαμηλά ή δεν ανιχνεύονται· αντιθέτως, τα αντισώματα IgA είναι ο δείκτης με τη μεγαλύτερη ευαισθησία σε περιπτώσεις τρέχουσας λοίμωξης, επαναλοίμωξης ή πρόσφατης λοίμωξης.

Τα ειδικά αντισώματα τάξης A εμφανίζονται στα πρώιμα στάδια της λοίμωξης και φθάνουν σε υψηλούς τίτλους τις πρώτες 4 εβδομάδες. Στη συνέχεια, ελαττώνονται ταχέως, ταχύτερα από τα IgG, γεγονός που επιτρέπει τη διάγνωση της οξείας λοίμωξης ακόμα και με ένα μόνο δείγμα. Τα IgG εμφανίζονται μετά από τα IgM και τα IgA και, κατά κανόνα, φθάνουν στα μέγιστα επίπεδα την 5η εβδομάδα της λοίμωξης. Υψηλός τίτλος, που συνοδεύεται από σημαντική αύξηση μεταξύ δύο δειγματοληψιών που απέχουν περίπου 2 εβδομάδες μεταξύ τους, επιβεβαιώνει τρέχουσα λοίμωξη.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ βασίζεται στην μέθοδο ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Το αντιγόνο Μυκόπλασμα, αφού υποβληθεί σε υπερήχους και διαλυτοποιηθεί, συνδέεται στη στερεά φάση. Οι εκλεκτικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μέσω επώασης με αραιωμένο ανθρώπινο ορό. Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από μονοκλωνικά αντισώματα ανθρώπινης αντι IgG συζευγμένα με υπεροξειδάση χρένου. Απομακρύνεται το συζυγές που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης.

Η ένταση του κυανού χρώματος που σχηματίζεται είναι ανάλογη προς την συγκέντρωση των εκλεκτικών αντισωμάτων που βρίσκονται στον υπό εξέταση ορό.

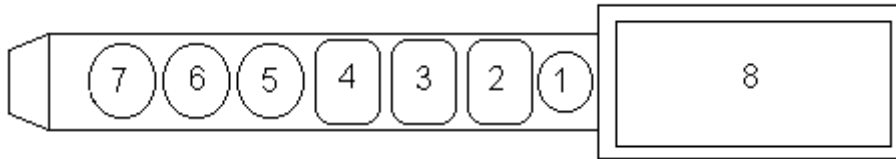
Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια για την εκτέλεση του τεστ, με τη χρήση της συσκευής Chorus/Chorus TRIO. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε AU/ml (αυθαίρετες μονάδες/ml), υπολογισμένες έχοντας μια καμπύλη εσωτερικού προτύπου ως αναφορά.

4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το όλο κιτ καλύπτει 36 τεστ.

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ 6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

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



Περιγραφή:

Θέση 8: Χώρος ετικέτας γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ ευαισθητοποιημένη με αντιγόνο του Μυκοπλάσματος (*Mycoplasma pneumoniae*).

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: μονοκλωνικά αντισώματα σεσημασμένα με ανθρώπινη anti IgG με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ 1 x 0.425 mL

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

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

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

5. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Προσοχή:

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

Διάθεση αποβλήτων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιείται πρέπει να επεξεργάζονται ως μολυσματικά απόβλητα και στη συνέχεια να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μετά από κάθε τοποθέτηση των σετ στη συσκευή CHORUS/CHORUS TRIO.
2. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - a) το συζυγές περιέχει φαινόλη
 - b) το υπόστρωμα είναι όξινο
 Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
3. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
4. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η επιφάνεια να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την διαδικασία ανάλυσης. Παρουσία οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η ζώνη. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

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

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το δείγμα είναι ένας ορός που προέρχεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με φλεβική λήψη και έχει περάσει από όλες τις διαδικασίες που προβλέπονται από τους κανονισμούς των εργαστηρίων. Ο νωπός ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C, ενώ για μεγαλύτερη χρονική περίοδο αποθήκευσης, καταψύξτε στους -20°C. Αποφύγετε τα ψυγεία αυτόματης κατάψυξης για την αποθήκευση των δειγμάτων. Το δείγμα μπορεί να υποστεί απόψυξη το πολύ 3 φορές. Μετά από την απόψυξη και πριν να το ρίξετε στην κυψελίδα, ανακινήστε το καλά. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του δείγματος και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

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

Το τεστ δεν μπορεί να γίνει πάνω σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται έξω από τα αποδεκτά όρια, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554

Φαξ: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει ένα ημιποσοτικό αποτέλεσμα σε AU/mL, μέσω μιας καμπύλης (εξαρτάται από την παρτίδα) που βρίσκεται περασμένη στην μνήμη της συσκευής.

Ο βαθμός ανοσίας του υπό ανάλυση ορού, μπορεί να ερμηνευτεί ως κατωτέρω:

ΑΝΟΣΟΣ: όταν η συγκέντρωση της IgG στο δείγμα, είναι >18 AU/mL

ΜΗ ΑΝΟΣΟΣ: αν η συγκέντρωση είναι <12 AU/mL

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν η συγκέντρωση βρίσκεται μέσα στο εύρος 12-18 AU/mL.

Βαθμός	Ερμηνεία των αποτελεσμάτων		Αποτέλεσμα CHORUS
> 40 AU/mL	Υψηλού βαθμού	Βαθμός συμβατός με λοίμωξη από M.pneumoniae εν εξελίξει ή πρόσφατη	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Μετρίου βαθμού	Η ερμηνεία μπορεί να γίνει μόνο μετά από μία άλλη λήψη σε διάστημα 8-15 ημερών.	P
≤ 18 AU/mL ≥12 AU/mL	Χαμηλού βαθμού		D/E
< 12 AU/mL	Όχι σημαντικό βαθμού		N

Η συσκευή δείχνει > όταν οι AU/mL είναι άνω των 100 AU/mL. Σε αυτή την περίπτωση διαλύστε το δείγμα με το Sample Diluent/Negative Control REF 83607 (e.g. 1:3) και επαναλάβετε το τεστ.

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές επαναλάβετε την αιμοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει μία λοίμωξη από Mycoplasma: σε περίπτωση κλινικής υπόνοιας επαναλαμβάνετε τη λήψη μετά από 15 ημέρες.

Οροί που λαμβάνονται κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης της λοίμωξης μπορούν να προκύπτουν θετικοί μονάχα στα αντισώματα της κλάσης IgM. Κατ' επέκταση συνιστάται να προσδιορίζεται και το επίπεδο των IgM χρησιμοποιώντας το kit Mycoplasma IgM (ref 81035).

Εναλλακτικά, θα γίνει ανάλυση ενός δευτέρου δείγματος που ελήφθη 8-14 ημέρες αργότερα, για να εξακριβωθεί μια ενδεχόμενη αύξηση των IgG.

Το αποτέλεσμα του τεστ πρέπει ακόμη να αξιολογηθεί μαζί με στοιχεία προερχόμενα από το ιστορικό του ασθενούς και / ή από άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η παρουσία στα δείγματα ορού δυνήτικα παρεμβαλλόμενων παραγόντων, όπως: PCR, χολερυθρίνη, ρευματοειδής παράγοντας, αιμόλυση και τριγλυκερίδια δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα του τεστ.

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Αναλύθηκαν 61 δείγματα, από τα οποία 42 αποτελούν θετικά αποτελέσματα και 19 αρνητικά με το kit Chorus σε σύγκριση με ένα άλλο kit της αγοράς. Τα μη συμφωνούντα αποτελέσματα αναλύθηκαν με το Western Blot ως αναφορά. Τα δείγματα με αμφίβολα αποτελέσματα θεωρήθηκαν θετικά. Το kit Dienes έδωσε 2 ψευδή θετικά. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

		ΑΝΑΦΟΡΑ		
		+	-	Σύνολο
Dienes	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Σύνολο	40	21	61

Ευαισθησία 100.0 % CI_{95%}: 91.2 to 100.0

Ειδικότητα 90.5 % CI_{95%}: 71.1 to 97.3

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Πίνακας 1. Ακρίβεια κατά την ανάλυση

	Αριθμός επαναλήψεων	Μέση τιμή AU/ml	Σταθ. Απόκ.	CV%
Παρτίδα 475	9	61.0	2.80	4.6
Παρτίδα 459	9	45.3	4.90	10.8
Παρτίδα 504	9	37.4	4.84	12.9

Πίνακας 2. Ακρίβεια μεταξύ αναλύσεων και μεταξύ παρτίδων

ΔΕΙΓΜΑ	Μέση τιμή AU/ml			Μέση τιμή	Σταθ. Απόκ.	CV%
	Παρτίδα 475	Παρτίδα 459	Παρτίδα 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(Español)

1. INDICACIONES

DETERMINACIÓN SEMICUANTITATIVA DE ANTICUERPOS IgG ANTI MYCOPLASMA EN SUERO HUMANO CON DISPOSITIVO DE UN SOLO USO APLICADO A LOS EQUIPOS CHORUS/CHORUS TRIO.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

Mycoplasma pneumoniae es el agente etiológico más común causa de pulmonía adquirida en comunidad, especialmente en la edad entre los 5 y los 30 años; puede ser responsable de epidemias que se desarrollan lentamente pues el período de incubación varía entre los 10 y los 14 días y el contagio ocurre con contactos cercanos o grupos encerrados (escuelas, cuarteles, núcleos familiares). La pulmonía del Mycoplasma también es dicha pulmonía anormal primaria o pulmonía del agente de Eaton.

M. pneumoniae ataca y destruye las células epiteliales ciliadas de la mucosa del tracto respiratorio. Microscópicamente puede causar pulmonías intersticiales, bronchitis y bronchiolitis.

En los casos de pulmonía, dada la repetición de los síntomas para varios agentes etiológicos, son necesarios medios diagnósticos adicionales como las pruebas serológicas para la diagnosis de la infección aguda.

La respuesta inmunitaria después de una infección causada por mycoplasma pneumoniae resulta estar ligada al mismo tipo de infección: los anticuerpos de clase IgM están presentes de forma más frecuente en los casos de infección primaria como demuestra el hecho de que se encuentran en los pacientes más jóvenes. En los pacientes más adultos y con una mayor probabilidad de reinfección, las IgM son bajas o no se encuentran, en cambio, las IgA resultan ser el marcador de mayor sensibilidad en las infecciones en curso, en las reinfecciones o en las infecciones recientes.

Los anticuerpos específicos de clase A aparecen de manera precoz, cuando comienza la enfermedad y llegan a títulos elevados en las primeras 4 semanas, después decaen repentinamente antes de las IgG, permitiendo el diagnóstico de infección aguda incluso con una sola extracción. Las IgG aparecen después de las IgM y las IgA, en promedio llegan al pico máximo en la 5ª semana. Un título alto, acompañado por un aumento significativo entre las dos extracciones a un intervalo de unas 2 semanas permite confirmar la presencia de una infección en curso.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay)

El antígeno Mycoplasma, sonificado y solubilizado, está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no han reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto por anticuerpos monoclonales anti- IgG humanos marcados con peroxidasa de rábano.

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

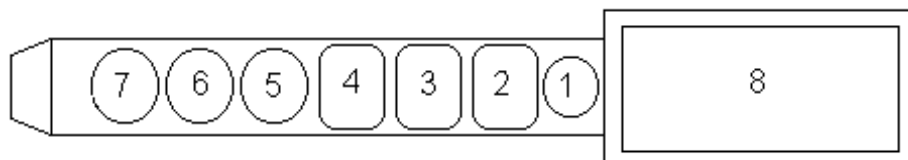
Los dispositivos de un solo uso contienen todos los reactivos para ejecutar la prueba cuando se aplican a los equipos Chorus/Chorus TRIO. El resultado es indicado en UI/ml calculadas con referencia a una curva estándar interna.

4. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases cada uno x 6 dispositivos

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

**Descripción:**

Posición 8: Espacio disponible para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA sensibilizado con antígeno de *Mycoplasma pneumoniae*.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUBSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.425 mL

Contenido : Suero humano diluido, a titulación conocida de anticuerpos con Proclin y Gentamicina, líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenido: Suero humano diluido, a titulación conocida de anticuerpos con Proclin y Gentamicina, líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Agua Destilada u desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes de un solo uso
- Solución de hipoclorito del sodio (5%)
- Envases para la colección de materiales potencialmente infecciosos

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

DISPOSITIVOS	8 semanas 2/8°C
CALIBRADOR	8 semanas 2/8°C
CONTROL POSITIVO	8 semanas 2/8°C

6. PRECAUCIONES DE USO

SOLAMENTE PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Cuidado:

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido probados y dieron resultados negativos en las pruebas aprobadas por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una completa garantía sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humana debe ser considerado potencialmente infecto. Todos los

materiales de origen humano tienen que manejarse según las prácticas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral. Usar los guantes de un solo uso y la protección para los ojos al manejar las muestras. Lavar las manos a fondo después de colocar los dispositivos en el equipo CHORUS/CHORUS TRIO.
2. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado contiene fenol
 - b) El sustrato es ácido

Si cualquier reactivo entra en contacto con la piel u ojos, lavar con mucha agua.

3. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
4. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada tendrá que ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1.0%, antes de que se continúe el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. Todos los materiales utilizados para limpiar derrames, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Poner todos los dispositivos a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso e utilizar dentro de 60 minutos.

1. **Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Controlar la presencia real de los reactivos en el dispositivo y la integridad de lo mismo, no utilizar dispositivos que visualmente falten de cualquier reactivo.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario Chorus.
5. Controlar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras puesto sobre el agarre del dispositivo a fines de garantizar la lectura correcta por parte del equipo.
7. Códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo a mano.
8. No exponer los dispositivos a fuerte iluminación ni a humos de hipoclorito durante la conservación y el uso.
9. Puede ser fuente de error el uso de muestras altamente hemolizadas, o muestras que presentan contaminación microbiana.
10. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus/Chorus TRIO averiguarse de que el pocillo de reacción no contenga cuerpos extraños.
11. Pipetear el suero examinado (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
12. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

El tipo de muestra está representado por el suero recogido normalmente de la vena y manejado con apropiadas precauciones como requerido por la buena práctica de laboratorio. El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C. La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces y no deben ser almacenadas en congeladores autodescongelantes. Después de deshelar, agitar con cuidado antes de la titulación. La calidad de la muestra puede ser seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos.

No utilizar muestras muy lipémicas, ictericas, hemolizadas o contaminadas.

El test no se puede aplicar a plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir un envase (lado con la cerradura de presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros en el envase, extraer el aire y cerrar fuertemente.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 6 Precauciones Analíticas puntos 1 y 8.
3. Dispensar en el pocillo n°1 de cada dispositivo 50 µl de suero no diluido, por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si requerida) y el test según indicaciones del Manual del Usuario Chorus.

9. VALIDACIÓN DEL TEST

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del manual del usuario del equipo. Si el equipo comunica que el suero de control tiene un valor afuera de los límites de aceptabilidad, es necesario ejecutar nueva calibración. Los resultados antecedentes serán corregidos automáticamente. Si el resultado del suero de control continúa siendo fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO provee un resultado semicuantitativo en AU/ml, por medio de una curva (lote dependiente) guardada por el equipo.

El grado de inmunidad puede ser interpretado como sigue:

INMUNE: cuando la concentración de IgG en la muestra es >18 AU/ml

NO INMUNE: cuando la concentración es < 12 AU/ml

DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando la concentración está entre los dos valores 12-18 AU/ml.

Titulación	Interpretación de los resultados		Resultado CHORUS
> 40 AU/mL	Titulación alta	Titulación compatible con infección por M. pneumoniae actual o recién	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Titulación mediana	La interpretación sólo puede hacerse después de otra recogida después de 8-15 días.	P
≤ 18 AU/mL ≥ 12 AU/mL	Titulación baja		D/E
< 12 AU/mL	Titulación no significativa		N

El aparato indica $>$ cuando las AU/mL son superiores a 100 AU/mL; en este caso diluir la muestra con Sample Diluent/Negative Control [REF](#) 83607 (e.g. 1:3) y repetir el test. El resultado deberá ser multiplicado por la dilución empleada.

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

11. LIMITACIONES

Un resultado negativo no excluye la infección por Mycoplasma: en caso de sospecha clínica, recoger una nueva muestra después de 15 días.

Los sueros recogidos durante la fase aguda de la infección pueden resultar positivos sólo a los anticuerpos IgM. Se recomienda determinar también el nivel de las IgM usando el kit Mycoplasma IgM (ref. 81035).

Alternativamente, se analizará una segunda muestra de suero recogida 8-14 días después para determinar un eventual incremento del nivel de anticuerpos IgG.

El resultado de test tendría que ser evaluado conjuntamente con otros resultados procedentes de la historia del paciente u de otros procedimientos de diagnóstico.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

La presencia en las muestras de sustancias que potencialmente pudieran interferir como PCR, Bilirubina, Factor Reumatoideo, Hemólisis y Triglicéridos no causan interferencias.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

Fueron analizadas 61 muestras, de las cuales 42 resultaron positivas y 19 negativas con el kit Chorus en comparación con otros kit comercial. Los resultados discordantes se analizaron por Western Blot considerado como referencia. Las muestras dudosas se consideraron positivas. El kit Diesse dio 2 resultados falsos positivos.

Los resultados están resumidos en la tabla siguiente:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Total	40	21	61

Sensibilidad 100.0 % CI_{95%}: 91.2 to 100.0

Especificidad 90.5 % CI_{95%}: 71.1 to 97.3

14. REPRODUCIBILIDAD

Tabla 1. Reproducibilidad intra-ensayo

	Número de réplicas	Media AU/ml	Desv. Est.	CV%
Lot. no. 475	9	61.0	2.80	4.6
Lot. no. 459	9	45.3	4.90	10.8
Lot. no. 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabla 2. Reproducibilidad entre ensayos y entre lotes

Muestra	Media AU/ml			Media	Desv. Est.	CV%
	Lot 475	Lot 459	Lot 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0,0

15. BIBLIOGRAFÍA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



MODE D'EMPLOI

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(Français)

1. UTILISATION

DETERMINATION SEMI-QUANTITATIVE DES ANTICORPS IgG ANTI-MYCOPLASMA DANS LE SERUM HUMAIN EN UTILISANT UN DISPOSITIF A USAGE UNIQUE APPLIQUE AUX INSTRUMENTS CHORUS/CHORUS TRIO

2. INTRODUCTION

Mycoplasma pneumoniae est le plus commun des agents étiologiques de la pneumonie acquise en collectivité, en particulier à un âge compris entre 5 et 30 ans. Il peut être responsable d'épidémies se développant lentement, dans la mesure où la période d'incubation dure de 10 à 14 jours et que la contagion concerne les contacts de proximité ou les groupes isolés (écoles, casernes, noyaux familiaux). La pneumonie de mycoplasma est également appelée pneumonie atypique primaire ou pneumonie de l'agent d'Eaton.

M. pneumoniae attaque et détruit les cellules épithéliales ciliées de la muqueuse de l'appareil respiratoire. Microscopiquement, il provoque des pneumonies interstitielles, des bronchites et des bronchiolites.

En cas de pneumonie, en raison de la fréquence des symptômes dus aux différents agents étiologiques, il est nécessaire de recourir à des moyens de diagnostic complémentaires, notamment aux tests sérologiques, pour le diagnostic des infections aiguës.

À la suite d'une infection à *Mycoplasma pneumoniae*, la réponse immunitaire est liée au type même de l'infection: les anticorps de classe IgM sont plus fréquents dans les cas d'infection primaire, comme le prouve leur incidence chez les adolescents et les jeunes adultes. Chez les patients adultes et qui présentent un risque de réinfection supérieur, les IgM sont faibles ou non décelables ; en revanche, les IgA constituent le marqueur le plus sensible dans les infections en cours, les réinfections ou les infections récentes.

Les anticorps spécifiques de classe A apparaissent de manière précoce, au début de la maladie, et ils atteignent des titres élevés au cours des 4 premières semaines, avant de retomber subitement avant les IgG, ce qui permet de poser un diagnostic d'infection aigue grâce à un seul prélèvement. Les IgG apparaissent après les IgM et les IgA, pour atteindre en moyenne le pic maximum au cours de la 5ème semaine. Un titre élevé, accompagné d'une augmentation significative entre deux prélèvements effectués à distance de 2 semaines environ, permet de confirmer la présence d'une infection en cours.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

L'antigène *Mycoplasma*, soniqué et solubilisé, est lié à la phase solide. A travers l'incubation avec le sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après les lavages permettant d'éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgG humaines conjuguées à la peroxydase de raifort. On élimine le conjugué qui ne s'est pas lié et on ajoute le substrat pour la peroxydase.

La couleur bleue qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques dans le sérum examiné.

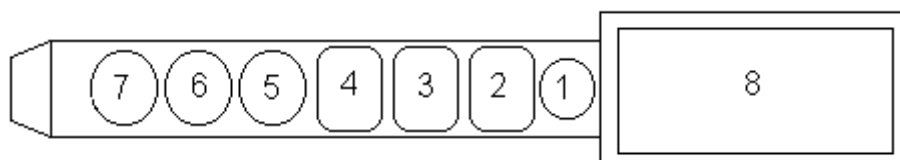
Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs pour effectuer le test appliqué aux instruments Chorus/Chorus TRIO. Le résultat est exprimé en AU/ml calculés en référence à une courbe standard interne.

4. COMPOSITION DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 confections contenant 6 dispositifs chacune

Mode d'emploi : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, en sortir les dispositifs nécessaires et mettre les autres dans le sachet qui contient le gel de silice. Chasser l'air et **fermer** le sachet en appuyant sur la fermeture. Conserver à 2/8°C.

**Description :**

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

Position 7 : vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE sensibilisé avec l'antigène du *Mycoplasma pneumoniae*.

Position 5 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

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

Position 3 : DILUANT POUR LES ECHANTILLONS

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

Position 2 : CONJUGUE

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

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.425 mL

Contenu : Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant du Proclin et de la Gentamycine, liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTROLE POSITIF 1 x 0.425 mL

Contenu : Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant du Proclin et de la Gentamycine, liquide prêt à l'usage.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5% d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

5. MODALITES DE CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

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

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

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

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

6. PRECAUTIONS**UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC IN VITRO.****Attention :**

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine qui ont été contrôlés et trouvés négatifs à la suite de l'exécution de tests approuvés par la FDA, tant pour le recherche de HbsAg que pour celles des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Etant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement

infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons. Se laver soigneusement les mains après avoir introduit les dispositifs dans l'instrument CHORUS/CHORUS TRIO.
2. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations de substances nocives ou irritantes :
 - a) Le conjugué contient du phénol
 - b) Le substrat est acide.
 Si un réactif entre en contact avec la peau ou avec les yeux, les laver à grande eau.
3. Les acides neutralisés et les autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium, de manière à obtenir une concentration finale d'au moins 1 %. Un contact de 30 minutes avec de l'hypochlorite à 1% suffit normalement à garantir une désinfection efficace.
4. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et nettoyer le plan de travail avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1%), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour nettoyer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant l'emploi, laisser les réactifs revenir à la température ambiante (18-30 °C) et les utiliser dans les 60 minutes.

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
3. Contrôler la présence des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
5. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif à fin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
8. N'exposer les dispositifs ni à un fort éclairage, ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'emploi.
9. Les échantillons fortement hémolysés ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent provoquer des résultats erronés.
10. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO, s'assurer que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
11. Pipeter le sérum en examen (50 µl) dans le puits 1 du dispositif (voir la figure).
12. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est constitué par le sérum obtenu à partir de sang prélevé normalement et manipulé selon les procédures standard adoptées par les laboratoires. Le sérum frais peut être stocké à 2/8°C pendant 4 jours. Pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20°C. Il ne faut pas utiliser de congélateurs autodégivrants pour la conservation des échantillons. L'échantillon ne peut subir plus de 3 décongélations. Les sérums décongelés doivent être bien agités avant le dosage. La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut fausser les résultats.

Il ne faut jamais utiliser d'échantillons fortement lipémiques, ictériques, hémolysés ou pollués.

Le test ne peut pas être appliqué au plasma humain.

8. PROCEDURE

1. Ouvrir le sachet du côté contenant la fermeture à pression, sortir le nombre de dispositifs nécessaires pour exécuter les examens et conserver les autres dans le sachet après en avoir chassé l'air.

2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 6 Précautions Analytiques, points 1 et 8.
3. Distribuer 50 µl de sérum non dilué dans le puits n°1 de chaque dispositif. Il faut utiliser un dispositif pour le calibre à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instruction de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en le traitant comme il est indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors de la fourchette d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du sérum de contrôle reste au dehors de la fourchette d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES RESULTATS

L'instrument Chorus/Chorus TRIO exprime son résultat semi-quantitatif en AU/ml, calculé à travers une courbe (lot dépendant) mémorisée par l'instrument.

Le degré d'immunité du sérum examiné peut être interprété de la manière suivante :

IMMUNISE : quand la concentration des IgG dans l'échantillon est > 18 AU/ml

NON IMMUNISE : quand la concentration des IgG est <12 AU/ml

DOUTEUX/EQUIVOQUE: quand la valeur est comprise dans la fourchette 12-18 AU/ml.

Degré	Interprétation des résultats		Résultat CHORUS
> 40 AU/mL	Degré élevé	Degré compatible avec une infection par M. pneumoniae en cours ou récente	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Degré modéré	L'interprétation n'est possible qu'après un deuxième prélèvement effectué 8/15 jours plus tard.	P
≤ 18 AU/mL ≥12 AU/mL	Degré faible		D/E
< 12 AU/mL	Degré insignifiant		N

L'instrument signale > quand les AU/ml sont supérieurs à 100 AU/ml. Dans ce cas, diluer l'échantillon avec le Sample Diluent/Negative Control REF 83607 (e.g. 1 :3) et refaire le test. Le résultat doit être multiplié par la dilution utilisée.

En cas de résultat douteux/équivoque, refaire le test. Si le résultat reste douteux/équivoque, répéter le prélèvement.

11. LIMITES DE LA PROCEDURE

Un résultat négatif n'exclut pas une infection par Mycoplasma : en cas de soupçon clinique, répéter le prélèvement 15 jours plus tard.

Les sérums prélevés pendant la phase aiguë de l'infection peuvent être positifs uniquement aux anticorps de la classe IgM. Il est donc conseillé de déterminer aussi le niveau des IgM en utilisant le kit Mycoplasma IgM (réf. 81035).

Autrement, on analysera un deuxième échantillon prélevé 8-14 jours plus tard, pour vérifier s'il y a eu une augmentation des IgG.

Le résultat du test doit toujours être évalué en tenant compte des données provenant de l'histoire du patient et/ou d'autres recherches diagnostiques.

12. SPECIFICITE ANALYTIQUE

La présence dans les échantillons de substances possiblement interférentes, comme PCR, la Bilirubine, RF, Hémolyse et les Triglycérides, ne cause pas aucune interférence.

13. SENSIBILITE ET SPECIFICITE DIAGNOSTIQUES

Sur les 61 échantillons qui ont été analysés avec le kit Chorus, en comparaison avec un autre kit disponible dans le commerce, 42 se sont avérés positifs et 19 négatifs. Les résultats discordants ont été analysés avec Western Blot considéré en référence. Les échantillons incertains ont été considérés positifs. Le kit Diesse a donné deux faux résultats positifs.

Les résultats sont reportés dans la table.

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Total	40	21	61

Sensibilité 100.0 % CI_{95%}: 91.2 to 100.0

Spécificité 90.5 % CI_{95%}: 71.1 to 97.3

14. PRECISION

Table 1. Précision dans la série

	Nombre de répliques	Moyen AU/ml	Dev. St.	CV%
Lot. no. 475	9	61.0	2.80	4.6
Lot. no. 459	9	45.3	4.90	10.8
Lot. no. 504	9	37.4	4.84	12.9

Table 2. Précision inter- séries et entre lots

Enchatillon	Moyen AU/ml			Moyen	Dev. St.	CV%
	Lot 475	Lot 459	Lot 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. BIBLIOGRAPHIE

1. G.B. Wisdom : Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt : Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean : Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(Português)

1. UTILIZAÇÃO

DETERMINAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DOS ANTICORPOS IgG CONTRA MICOPLASMA EM SORO HUMANO COM DISPOSITIVO DESCARTÁVEL APLICADO NOS INSTRUMENTOS CHORUS/CHORUS TRIO.

2. INTRODUÇÃO

O *Mycoplasma pneumoniae* é o mais comum agente etiológico da pneumonia adquirida em comunidade, especialmente em idades compreendidas entre os 5 e os 30 anos; pode ser o responsável de epidemias que se desenvolvem lentamente, pois o seu período de incubação varia de 10 a 14 dias e o contágio dá-se através do contacto aproximado ou em grupos segregados (escolas, quartéis, núcleos familiares). A pneumonia por *Mycoplasma* é também chamada pneumonia atípica primária ou pneumonia do agente de Eaton.

O *M.pneumoniae* ataca e destrói as células epiteliais ciliadas da mucosa do aparelho respiratório. Microscopicamente provoca pneumonias intersticiais, bronquites e bronquiolites.

Nos casos de pneumonia, visto que os sintomas podem ser provocados por diferentes agentes etiológicos, serão necessários meios de diagnósticos suplementares, tais como os testes serológicos, para diagnosticar a presença de infecção aguda.

A resposta imunitária, na sequência de infecção por *Mycoplasma pneumoniae*, está ligada ao próprio tipo de infecção: anticorpos da classe IgM estão presentes mais frequentemente nos casos de infecção primária como evidenciado nos casos verificados nos pacientes mais jovens. Nos pacientes mais adultos existe maior probabilidade de reinfeção, as IgM são baixas ou não detetáveis; pelo contrário as IgA resultam ser o marcador mais sensível nas infeções em curso, nas infeções recidivas e nas infeções recentes.

Os anticorpos específicos de classe A aparecem precocemente, no início da doença e atingem títulos elevados nas primeiras 4 semanas, para depois decrescerem subitamente antes das IgG, permitindo o diagnóstico da infecção aguda com uma única colheita. As IgG aparecem depois das IgM e das IgA, em média atingem o pico máximo na 5ª semana. Um título elevado, acompanhado por um aumento significativo entre duas colheitas, a uma distância de cerca de 2 semanas permite confirmar a presença de uma infecção em curso.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

O antígeno *Mycoplasma*, sonificado e solubilizado, é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno por incubação com soro humano diluído. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efectua-se a incubação com o conjugado, formado por anticorpos monoclonais anti-IgG humanas, conjugados com peroxidase de rábano. O conjugado não ligado é eliminado e adiciona-se o substrato para a peroxidase.

A cor azul que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro em exame.

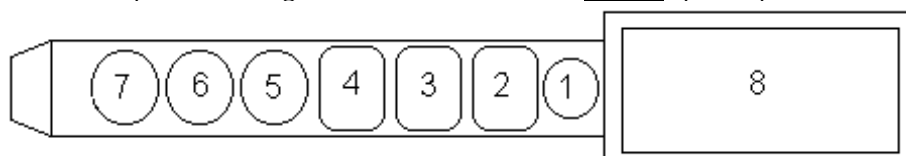
Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para a realização do teste, quando aplicados nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO. O resultado é indicado em AU/ml calculadas em referência a uma curva padrão interna.

4. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens com 6 dispositivos cada.

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



Descrição:

Posição 8: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 7: vazia

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA sensibilizado com antígeno de *Micoplasma pneumoniae*.

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA não sensibilizado

Posição 4: SUBSTRATO TMB .

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

Posição 3: DILUENTE DE AMOSTRAS

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

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO no qual o operador deve deitar o soro não diluído.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.425 mL

Conteúdo: Soro humano diluído, de concentração conhecida de anticorpos com Proclina e Gentamicina, líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Conteúdo : Soro humano diluído, de concentração conhecida de anticorpos com Proclina e Gentamicina, líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- WASHING BUFFER [REF] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Água destilada ou desionizada
- Acessórios de vidro normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas de precisão para volumes de 50 a 200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

5. MODALIDADES DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo exterior da embalagem.

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

DISPOSITIVOS	8 semanas entre 2 e 8°C
CALIBRADOR	8 semanas entre 2 e 8°C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas entre 2 e 8°C

6. PRECAUÇÕES

EXCLUSIVAMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Atenção:

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados com testes aprovados pela FDA e encontrados negativos para presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. De qualquer modo, como nenhum teste diagnóstico pode garantir a ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infeccioso. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados de acordo com as normas de segurança normalmente seguidas em laboratório.

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

Advertências para a segurança pessoal

1. Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis e proteger os olhos ao manusear as amostras. Lavar muito bem as mãos depois de inserir os dispositivos no instrumento CHORUS/CHORUS TRIO.
2. Os seguintes reagentes contêm baixas concentrações de substâncias nocivas ou irritantes:
 - a) O conjugado contém fenol
 - b) O substrato é ácido
 Em caso de contacto de um reagente com a pele ou os olhos, lavar com água abundante.
3. Os ácidos neutralizados e outros desperdícios líquidos devem ser desinfetados adicionando hipoclorito de sódio em quantidade suficiente para obter uma concentração final de, pelo menos, 1%. Normalmente é suficiente uma exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos para garantir uma desinfecção eficiente.
4. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afectada deverá ser limpa, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Caso esteja presente um ácido, o hipoclorito de sódio não deve ser usado antes de se ter enxugado a área afectada. Todos os materiais usados para a limpeza de eventuais derramamentos acidentais, incluindo luvas, devem ser eliminados como lixos potencialmente infecciosos. Não esterilizar em autoclave os materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

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

1. Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.

2. Adicionando a amostra ao poço verifique se está devidamente distribuído no fundo.
3. Verificar a presença efectiva dos reagentes no dispositivo e o estado desse mesmo dispositivo; não usar dispositivos que, após um controlo visual, apresentem a falta de qualquer reagente.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Instrumento.
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO está devidamente programado (consultar o Manual de Instruções do Chorus).
6. Não alterar o código de barras situado no punho do dispositivo de modo a permitir a leitura correcta pelo instrumento.
7. Os códigos de barras defeituosos podem ser inseridos manualmente no instrumento.
8. Durante a utilização e a conservação, não expor os dispositivos a luz forte nem a vapores de hipoclorito.
9. Amostras fortemente hemolisadas, ou amostras com contaminação bacteriana podem provocar resultados errados.
10. Antes de inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO, verificar se o poço de reacção não contém corpos estranhos.
11. Pipetar o soro a testar (50 µl) no poço 1 do dispositivo (ver a figura).
12. Não usar o dispositivo depois do prazo de validade.

7. TIPO DE AMOSTRA E CONSERVAÇÃO

A amostra é representada por soro obtido de sangue recolhido por punção venosa e manuseado de acordo com as normas laboratoriais padrão. O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20°C. Evitar o uso de congeladores No Frost para a conservação das amostras. A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Depois do descongelamento, agitar cuidadosamente antes da dosagem. A qualidade da amostra pode ser seriamente influenciada pela contaminação microbiana, o que poderá levar à obtenção de resultados errados.

Não devem ser utilizadas amostras fortemente lipémicas, ictéricas, hemolisadas ou contaminadas.

O teste não pode ser aplicado ao plasma humano.

8. MODO DE PROCEDER

1. Abrir a embalagem (do lado com o fecho por pressão), pegar no número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes fechando a embalagem depois de ter esvaziado o ar.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 6 - Advertências Analíticas, alíneas 1 e 8.
3. Dosear no poço 1 de cada dispositivo 50 µl de soro a analisar não diluído; em cada troca de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador..
4. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efectuar a calibração (se necessário) e o teste como indicado no Manual de Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Usar o soro de controlo para verificar a exactidão do resultado obtido, procedendo como indicado no Manual de Instruções do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo tem um valor fora do intervalo de

aceitabilidade, é necessário efectuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado semiquantitativo em AU/ml, através de uma curva (dependente do lote) memorizada pelo instrumento.

O grau de imunidade do soro em exame pode ser interpretado do modo seguinte:

IMUNE: quando a concentração das IgG na amostra é >18 AU/ml

NÃO IMUNE: quando a concentração é <12 AU/ml

DUVIDOSO/EQUIVOCADO: quando a concentração está no intervalo 12-18 AU/ml.

Título	Interpretação dos resultados		Resultado CHORUS
> 40 AU/mL	Título alto	Título compatível com a infecção por M. pneumoniae em progresso ou recente	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Título moderado	A interpretação só poderá ser efectuada após uma nova colheita a realizar 8 a 15 dias mais tarde.	P
≤ 18 AU/mL ≥12 AU/mL	Título baixo		D/E
< 12 AU/mL	Título não significativo		N

O instrumento assinala > quando as AU/mL forem superiores a 100 AU/mL; neste caso, diluir a amostra com Sample Diluent/Negative Control REF 83607 (e.g. 1:3) e repetir o teste. O resultado deverá ser multiplicado por a diluição empregada.

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

11. LIMITES DO TESTE

Um resultado negativo não exclui a presença de uma infecção por Mycoplasma: em caso de suspeita clínica, repetir a colheita 15 dias mais tarde

Os soros recolhidos durante a fase aguda da infecção podem dar resultados positivos apenas aos anticorpos da classe IgM. Aconselha-se determinar também o nível de IgM utilizando o kit Mycoplasma IgM (ref. 81035).

Em alternativa, analisa-se uma segunda amostra recolhida 8 a 14 dias mais tarde, para verificar um eventual aumento das IgG.

O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto aos dados provenientes do historial clínico do doente e/ou de outros exames clínicos.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

A presença, na amostra do soro, de interferidores potenciais como PCR, Bilirubina, Fator Reumatóide, Hemolise e Triglicéridos não altera o resultado do teste.

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

Foram analisadas 61 amostras, das quais 42 deram resultados positivos e 19 negativos com o kit Chorus em comparação com outro kit comercial. Os resultados divergentes foram analisados com Western Blot considerado de referência. As amostras incertas foram consideradas positivas. O kit Diesse deu 2 resultados falsos positivos.

Os resultados são reportados na tabela seguinte.

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	40	2	42

	-	0	19	19
	Total	40	21	61

Sensibilidade 100.0 % CI_{95%}: 91.2 to 100.0

Especificidade 90.5 % CI_{95%}: 71.1 to 97.3

14. PRECISÃO

Tabela 1. Precisão no teste

	Número de repetições	Média AU/ml	Desv. Padrão	CV%
Lot. no. 475	9	61.0	2.80	4.6
Lot. no. 459	9	45.3	4.90	10.8
Lot. no. 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabela 2. Precisão entre testes e entre lotes

Amostra	Média AU/ml			Média	Desv. Padrão	CV%
	Lot 475	Lot 459	Lot 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(Romana)

1. DESTINATIA UTILIZARII

DETERMINAREA SEMICANTITATIVA A ANTICORPILOR DE CLASA IgG PENTRU MYCOPLASMA IN SER UMAN, UTILIZAND UN DISPOZITIV DE UNICA FOLOSINTA UTILIZAT PE INSTRUMENTELE CHORUS/CHORUS TRIO

2. INTRODUCERE

Mycoplasma pneumoniae este cel mai frecvent factor etiologic care provoaca pneumonia dobandita in mediile comunitatilor, afectand in special persoanele cu varste cuprinse intre 5 si 30 de ani; aceasta poate provoca epidemii care se dezvoltă lent, deoarece perioada de incubatie variaza de la 10 pana la 14 zile, iar infectarea implica persoane care intra in contact permanent unele cu altele sau in grupuri segregate (scoli, cazarmi militare, grupuri de familii). Pneumonia provocata de Mycoplasma este de asemenea cunoscuta drept pneumonia primara atipica sau pneumonia lui Eaton.

Mycoplasma pneumoniae ataca si distruge celulele epiteliale ciliate ale mucoasei tractului respirator. Examinarea microscopica evidentiaza pneumonia interstitiala, bronsita si bronsiolita.

Din cauza recurentei simptomelor provocate de factori etiologici diferiti, sunt necesare masuri suplimentare de diagnosticare cum ar fi testele serologice, pentru a diagnostica o pneumonie acuta.

Raspunsul imun care urmeaza unei infectii cu Mycoplasma pneumoniae, depinde de tipul de infectie: anticorpii de clasa IgM se gasesc mai frecvent in cazul infectiilor primare dupa cum demonstreaza prezenta lor la pacientii mai tineri. IgM sunt mai reduși sau nu se gasesc la pacientii mai in varsta cu o probabilitate mai mare de recidiva. Pe de alta parte, IgA reprezinta markerul cel mai mare de sensibilitate in cazul unei infectii in desfasurare, a unei recidive sau a unei infectii recente.

Anticorpii de clasa IgA specifici apar devreme in cadrul infectiei si ating nivelul de varf in primele 4 saptamani, apoi scad destul de repede, mai devreme decat IgG; diagnosticarea unei infectii acute poate fi adesea facuta pe baza unui singur test al probei. IgG apar dupa IgM si IgA si de obicei ating nivelul de varf in a 5 a saptamana. Un titru ridicat impreuna cu o crestere semnificativa intre cele doua probe recoltate la aproximativ 2 saptamani distanta, confirma prezenta unei infectii in desfasurare.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul se bazeaza pe principiul ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

Antigenul Mycoplasma solubilizat, supus la ultrasunete, este cuplat cu faza solida. Imunoglobulinele specifice se cupleaza cu antigenul prin incubare cu proba de ser uman. Dupa etapele de spalare desfasurate pentru a elimina proteinele care nu au reactionat, se efectueaza incubarea cu conjugatul (anticorpi monoclonali IgG anti-umani conjugati cu peroxidaza de hrean). Conjugatul care nu s-a cuplat este eliminat, si se adauga substratul de peroxidaza.

Culoarea albastra care se dezvoltă este proportionala cu concentratia anticorpilor specifici prezenti in serul de testare.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii necesari pentru efectuarea testului atunci cand acestea sunt utilizate pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

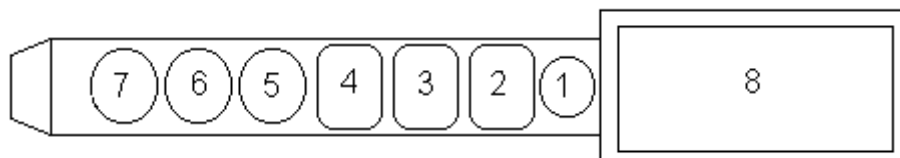
Rezultatele sunt exprimate in AU/ml calculat in raport cu o curba standard interna.

4. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de teste.

DD DISPOZITIVE 6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive

Utilizare: **lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei**, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculețul cu silica gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

**Descriere:**

Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea etichetei cu cod de bare

Pozitia 7: goala

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII captusit cu antigen *Mycoplasma pneumoniae*.

Pozitia 5: GODEUL necaptusit al MICROPLACII

Pozitia 4: SUBSTRAT TMB

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

Pozitia 3: DILUANTUL PROBEI

Continut: Solutie proteica continand fenol 0.05%, Bronidox 0.02% si un indicator pentru evidentiarea prezentei serului.

Pozitia 2: CONJUGAT

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

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.425 mL

Continut: Ser uman diluat, cu o concentratie cunoscuta de anticorpi, continand Proclin si Gentamicina, **in forma lichida, gata de utilizare.**

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.425 mL

Continut: Ser uman diluat, cu o concentratie cunoscuta de anticorpi, continand Proclin si Gentamicina, **in forma lichida, gata de utilizare.**

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlariie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

5. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului). Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere si/sau pregatire, stabilitatea reactivilor este limitata

DISPOZITIVELE	8 saptamani 2/8°C
CONTROLUL POZITIV	8 saptamani 2/8°C
CALIBRATORUL	8 saptamani 2/8°C

6. MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA IN VITRO.

Atentie:

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura. In timpul manevrarii specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO.
2. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante daunatoare sau iritante:
 - a) Conjugatul contine fenol
 - b) Substratul este acid
 In cazul in care vreunul dintre reactivi intra in contact cu pielea sau cu ochii, spalati zona temeinic cu apa.
3. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
4. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de precautie analitice

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

1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
5. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare al Instrumentului Chorus).
6. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
7. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument.
8. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
9. Utilizarea probelor puternic hemolizate sau a probelor prezentand contaminare microbiana, pot constitui surse de indicare a unei erori.
10. Inainte de a introduce dispozitivele in instrumentul Chorus/Chorus TRIO, verificati ca godeul de reactie sa nu contina corpuri straine.
11. Pipetati serul de testare (50 µl) in godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
12. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.

7. TIPUL SI PASTRAREA PROBEI

Proba este compusa din serul recoltat prin metoda obisnuita, din vena, si manevrata respectand toate masurile de precautie dictate de bunele practici de laborator. Serul proaspat poate fi pastrat timp de 4 zile la 2/8°C, sau congelat in vederea pastrarii pentru perioade mai indelungate la -20°C, si poate fi dezghetat de maxim 3 ori. Nu pastrati probele in congelatoare cu sistem de auto-dejivrare. Probele dezghetate trebuie agitate cu atentie inainte de utilizare. Calitatea probei poate fi grav afectata in cazul contaminarii microbiene, care duce la rezultate eronate.

Trebuie evitate probele continand o cantitate mare de lipide, puternic icterice, hemolizate sau contaminate.

Testul nu poate fi aplicat in cazul plasmiei.

8. PROCEDURA

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.
2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul Masuri de Precautie Analitice, punctele 1 si 8.
3. Distribuiti 50 µl din serul de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrumentul Chorus/Chorus TRIO. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentu.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare. In cazul in care instrumentul semnaleaza faptul ca serul de control are o valoare care se situeaza in afara intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate in mod automat.

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

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO indica un rezultat semicantitativ in AU/mL, calculat pe baza unei curbe memorate in instrument, curba ce depinde de lot.

Gradul de imunitate al serului de testare poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

IMUN: atunci cand concentratia IgG din proba este >18 AU/mL

EXPUS: atunci cand concentratia < 12 AU/mL

INCERT/ECHIVOC: atunci cand concentratia se inscrie in intervalul 12-18 AU/mL

Titru	Interpretarea rezultatelor		Rezultatul CHORUS
> 40 AU/mL	Titru crescut	Titru compatibil cu o infectie M.pneumoniae recenta sau prezenta	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Titru moderat	Interpretarea poate fi efectuata numai dupa obtinerea unei noi recoltari a unei probe dupa 8-15 zile.	P
≤ 18 AU/mL ≥12 AU/mL	Titru scazut		D/E
< 12 AU/mL	Titru nesemnificativ		N

Atunci cand semnul > apare pe afisajul instrumentului, AU/mL depasesc 100 AU/mL; in acest caz, diluati proba in Diluantul Probei/Control Negativ REF 83607 (de exemplu 1:3) si repetati testul. Rezultatul trebuie inmultit cu factorul de dilutie utilizat.

Daca rezultatul este incert/echivoc, repetati testul. Daca ramane incert/ echivoc, colectati o noua proba de ser.

11. LIMITARILE PROCEDURII

Un rezultat negativ nu exclude o infectie cu Mycoplasma: in cazul suspectarii, din punct de vedere clinic, a unei infectii, se va recolta o noua proba dupa 15 zile.

Probele de ser recoltate in timpul fazei acute a infectiei pot indica un rezultat pozitiv numai la anticorpii IgM. Se recomanda determinarea nivelului Mycoplasma IgM utilizand kitul Mycoplasma IgM (REF 81035).

In mod alternativ, trebuie testata in paralel o a doua proba de ser, obtinuta dupa 8-14 zile, pentru a determina o crestere a nivelului de anticorpi IgG.

Rezultatul testului trebuie interpretat in relatie cu informatiile disponibile in urma evaluarii istoricului pacientului si cu cele provenite prin alte proceduri de diagnosticare.

12. SPECIFICITATEA ANALITICA

Prezenta, in serul de testare, a unor substante potential interferente, cum ar fi Proteina C Reactiva, bilirubina, factorul reumatoid, hemoliza si trigliceridele, nu modifica rezultatul testului.

13. SENSIBILITATEA SI SPECIFICITATEA DIAGNOSTICULUI

Au fost testate 61 de probe, dintre care 42 au indicat rezultate pozitive si 19 au indicat rezultate negative impreuna cu kitul Chorus in comparatie cu alta metoda disponibila pe piata. Probele discordante au fost testate utilizand metoda Western Blotting, considerata drept referinta. Probele cu rezultate incerte au fost considerate ca fiind pozitive. Kitul Diesse a indicat 2 rezultate fals pozitive.

Rezultatele sunt expuse pe scurt in urmatorul tabel:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Total	40	21	61

Sensibilitate 100.0 % CI_{95%}: 91.2 pana la 100.0

Specificitate 90.5 % CI_{95%}: 71.1 pana la 97.3

14. PRECIZIA

Tabelul 1. Precizia in cadrul ciclului de rulare

	Nr. of replicate	Medie AU/ml	SD	CV%
Lot. nr. 475	9	61.0	2.80	4.6
Lot. nr. 459	9	45.3	4.90	10.8
Lot. nr. 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabelul 2. Precizia intre ciclurile de rulare si intre loturi

Proba	Medie AU/ml			Medie	SD	CV%
	Lot 475	Lot 459	Lot 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. INDEXUL SIMBOLURILLOR FOLOSITE

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

16. BIBLIOGRAFIE

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988



ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(BG)

1. ИЗПОЛЗВАЙТЕ

МЕТОД ЗА ЕНЗИМЕН ИМУНОАНАЛИЗ ЗА ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА IgG АНТИТЕЛА КЪМ MYCOPLASMA В ЧОВЕШКИ СЕРУМ С УСТРОЙСТВО ЗА ЕДНОКРАТНА УПОТРЕБА, ПРИЛОЖЕНО КЪМ АПАРАТИТЕ CHORUS И CHORUS TRIO

2. ВЪВЕДЕНИЕ

Mycoplasma pneumoniae е най-честият етиологичен причинител на пневмония, придобита в обществото, особено във възрастовата група от 5 до 30 години; тя може да бъде причина за епидемии, които се развиват бавно, тъй като инкубационният период варира от 10 до 14 дни, а заразяването включва близки контакти или обособени групи (училища, казарми, домакинства). Микоплазмената пневмония се нарича още първична атипична пневмония или пневмония с причинител Итън.

M. pneumoniae атакува и разрушава ресничестите епителни клетки на лигавицата на дихателните пътища. Микроскопски той причинява интерстициална пневмония, бронхит и бронхиолит.

В случаите на пневмония, предвид повторната поява на симптоми при различни етиологични агенти, за диагностициране на острата инфекция са необходими допълнителни диагностични средства, като например серологични тестове.

Имунният отговор след инфекция с Mycoplasma pneumoniae изглежда е свързан с вида на самата инфекция: антитела от клас IgM се срещат по-често в случаите на първична инфекция, за което свидетелства появата им при по-млади пациенти. При по-възрастните пациенти с по-голяма вероятност от повторна инфекция IgM е нисък или неоткриваем; за разлика от него IgA е маркерът с най-висока чувствителност при текущи инфекции, повторни инфекции или скорошни инфекции.

Специфичните антитела от клас A се появяват рано, в началото на заболяването, и достигат високи титри през първите 4 седмици, след което рязко намаляват преди IgG, което позволява диагностицирането на острата инфекция дори с една кръвна проба. IgG се появява след IgM и IgA, като средно достига своя връх през 5-ата седмица. Високият титър, придружен от значително увеличение между две проби с интервал от около две седмици, потвърждава наличието на продължаваща инфекция.

3. ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Тестът се основава на принципа на ELISA (Ензимен имуноанализ (ELISA)).

Сонираният и разтворен антиген на микоплазмата се свързва с твърдата фаза. При инкубиране с разреден човешки серум специфичните имуноглобулини се свързват с антигена. След промиване за отстраняване на нереагиралите протеини се извършва инкубация с конюгат, състоящ се от моноклонални анти-човешки IgG антитела, конюгирани с хрян пероксидаза. Несвързаният конюгат се отстранява и се добавя субстрат за пероксидазата.

Синьото оцветяване, което се получава, е пропорционално на концентрацията на специфичните антитела в тестовия серум.

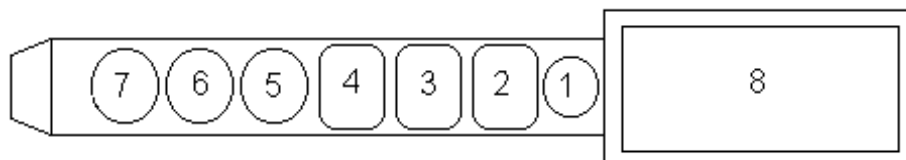
Устройствата за еднократна употреба съдържат всички реактиви за извършване на теста, когато се прилагат към инструментите Chorus/Chorus TRIO. Резултатът се изразява в AU/ml, изчислен спрямо вътрешна стандартна крива.

4. СЪСТАВ НА КОМПЛЕКТА И ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТ

Комплектът е достатъчен за 36 определяния.

DD УСТРОЙСТВА 6 опаковки с по 6 устройства

Употреба: уравновесете пликата до стайна температура, отворете пликата, извадете необходимите устройства; поставете останалите в пликата, съдържащ силикагел, изпуснете въздуха и запечатайте, като натиснете затварянето. Съхранявайте при 2/8°C.

**Описание:**

Позиция 8: Свободно място за етикет с баркод

Позиция 7: празна

Позиция 6: ЯМКА ЗА МИКРОПЛАКА, сенсibiliзирана с антиген на *Mycoplasma pneumoniae*.

Позиция 5: ЯМКА ЗА МИКРОПЛАКА не е сенсibiliзиран.

Позиция 4: ТМВ СУБСТРАТ

Съдържание: Тетраметилбензидин 0,26 mg/ml и H₂O₂ 0.01%, стабилизиращи в цитратен буфер 0,05 mol/L (pH 3,8)

Позиция 3: РАЗРЕДИТЕЛ ЗА ПРОБИ

Съдържание: Протеинов разтвор, съдържащ фенол 0,05%, Бронидокс 0,02% и индикатор за откриване на наличието на серум.

Позиция 2: КОНЮГАТ

Съдържание: Маркирани с пероксидаза моноклонални античовешки IgG антитела във фосфатнобуфериран разтвор, съдържащ 0,05 % фенол и 0,02 % Бронидокс.

Позиция 1: ЕМПИРИЧНА ЯМКА, в която потребителят трябва да дозира неразредения серум.

КАЛИБРАТОР КАЛИБРАТОР 1 x 0,425 ml

Съдържание: Разреден човешки серум, известна концентрация на антитела с проклин и гентамицин, течен, готов за употреба.

КОНТРОЛА + ПОЛОЖИТЕЛНА КОНТРОЛА 1 x 0.425 ml

Съдържание: Разреден човешки серум, известна концентрация на антитела с проклин и гентамицин, течен, готов за употреба.

ДРУГИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО СЕ ИЗИСКВАТ, НО НЕ СА ПРЕДВИДЕНИ.

- ПРОМИВЕН БУФЕР С РЕФЕРЕНТЕН НОМЕР 83606
- ПОЧИСТВАЩ РАЗТВОР 2000 РЕФ. 83609
- ДЕЗИНФЕКЦИРАЩ РАЗТВОР С РЕФЕРЕНТЕН НОМЕР 83604 - 83608
- ХОР ОТРИЦАТЕЛНА КОНТРОЛА/РАЗРЕДИТЕЛ ЗА ПРОБИ РЕФ. НОМЕР 83607
- Дестилирана или дейонизирана вода
- Обикновена лабораторна съклария: цилиндри, епруветки и др.
- Микропипети с възможност за точно вземане на обеми от 50-200 µl
- Ръкавици за еднократна употреба
- 5% разтвор на натриев хипохлорит
- Контейнери за събиране на потенциално заразени материали

5. СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАКТИВИТЕ

Реагентите трябва да се съхраняват при температура 2/8°C. В случай на неправилна температура на съхранение калибрирането трябва да се повтори и да се провери правилността на резултата с помощта на контролен серум (вж. глава 9 валидиране на теста).

Срокът на годност е отпечатан върху всеки компонент и върху етикета на външната опаковка.

Реагентите са с ограничена стабилност след отваряне и/или подготовка:

УСТРОЙСТВА	8 седмици при 2/8°C
КАЛИБРАТОР	8 седмици при 2/8°C
ПОЛОЖИТЕЛЕН КОНТРОЛ	8 седмици при 2/8°C

6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

САМО ЗА ИН ВИТРО ДИАГНОСТИКА.

Внимание:

Този комплект съдържа материали от човешки произход, които са тествани и са отрицателни при одобрени от FDA тестове за HbsAg и анти-HIV-1, анти-HIV-2 и анти-HCV антитела. Тъй като никой диагностичен тест не може да даде пълна гаранция за отсъствието на инфекциозни агенти, всеки материал от човешки произход трябва да се счита за потенциално заразен. С всички реактиви и проби трябва да се борави в съответствие с правилата за безопасност, приети в лабораторията.

Изхвърляне на остатъци: използваните серумни проби, калибратори и ленти трябва да се третират като инфектирани остатъци, след което да се изхвърлят в съответствие с действащите законови разпоредби.

Предупреждения за лична безопасност

1. Не пипетирайте с уста. Използвайте ръкавици за еднократна употреба и защита на очите при работа с пробите. Измийте добре ръцете си, след като поставите устройствата в уреда CHORUS/CHORUS TRIO.
2. Следните реактиви съдържат ниски концентрации на вредни или дразнещи вещества:
 - а) Конюгатът съдържа фенол
 - б) Субстратът е киселинен
 Ако реагентът попадне върху кожата или очите, измийте ги обилно с вода.
3. Неутрализираните киселини и други течни отпадъци трябва да се дезинфекцират чрез добавяне на натриев хипохлорит в достатъчен обем, за да се постигне крайна концентрация от поне 1 %. Излагането на 1% натриев хипохлорит в продължение на 30 минути обикновено е достатъчно, за да се осигури ефективна дезинфекция.
4. Всеки разлив на потенциално заразени материали трябва да се отстрани незабавно с абсорбираща хартия и замърсената зона трябва да се почисти, например с 1% натриев хипохлорит, преди да се продължи работата. Ако има киселина, натриевият хипохлорит не трябва да се използва, докато зоната не бъде изсушена. Всички материали, използвани за почистване на случайни разливи, включително ръкавици, трябва да се изхвърлят като потенциално инфекциозни отпадъци. Не използвайте автоклав за материали, съдържащи натриев хипохлорит.

Аналитични предупреждения

Преди употреба приведете устройствата на стайна температура (18-30°C) и ги използвайте в рамките на 60 минути.

1. **Изхвърлете устройствата със субстрат (ямка 4), оцветен в синьо.**
2. Когато добавяте пробата в ямката, проверете дали тя е напълно разпределена на дъното.
3. Проверявайте действителното наличие на реагентите в устройството и целостта на самото устройство, не използвайте устройства, които показват липса на някои реагенти при визуална проверка.
4. Устройствата трябва да се използват заедно с инструмента Chorus/Chorus TRIO, като се спазва стриктно ръководството за инструмента и инструкциите за употреба
5. Проверете дали инструментът Chorus/Chorus TRIO е настроен правилно (вж. Ръководството за потребителя на Chorus).
6. Не променяйте баркода върху дръжката на устройството, за да може той да бъде прочетен правилно от инструмента.
7. Дефектните баркодове могат да бъдат въведени ръчно в инструмента.
8. Не излагайте устройствата на силна светлина или хипохлоритни пари по време на съхранение и употреба.
9. Използването на силно хемолизирани проби или проби с микробно замърсяване може да бъде източник на грешки.
10. Преди да поставите устройството в инструмента Chorus/Chorus TRIO, се уверете, че в реакционната ямка няма чужди тела.
11. Нанесете с пипета тестовия серум (50 µl) в ямка 1 на устройството (вж. фигурата).
12. Не използвайте устройството след изтичане на срока на годност

7. ВИД НА ПРОБАТА И СЪХРАНЕНИЕ

Пробата е серум, получен от кръв, взета чрез обикновена венепункция, и се обработва съгласно стандартните лабораторни процедури. Пресният серум може да се съхранява в продължение на 4 дни при 2/8°C; за по-дълъг период на съхранение я замразете при -20°C. Избягвайте използването на саморазмразяващи се фризери за съхранение на проби. Пробата може да бъде подложена на максимум 3 размразявания. След размразяването разклатете внимателно преди дозиране. Качеството на пробата може да бъде сериозно засегнато от микробно замърсяване, което може да доведе до грешни резултати.

Не трябва да се използват силно липемични, иктерични, хемолизирани или замърсени проби.

Тестът не е приложим за човешка плазма.

8. ПРОЦЕДУРА

1. Отворете плика (страната, съдържаща уплътнението под налягане), вземете необходимия брой устройства за извършване на изследванията и запазете останалите, като затворите плика отново, след като изпуснете въздуха.
2. Визуално проверете състоянието на устройството съгласно инструкциите в глава 6 Аналитични предупреждения, точки 1 и 8.

3. Дозирайте 50 μ l неразреден серум, който ще се анализира, в ямка № 1 на всяко устройство, като при всяка смяна на партидата използвайте калибратор.
4. Въведете устройствата на инструмента Chorus/Chorus TRIO. Извършете калибриране (ако е необходимо) и тест, както е описано в ръководството за употреба на инструмента.

9. ВАЛИДИРАНЕ НА ТЕСТА

Използвайте контролен серум, за да проверите правилността на получения резултат, като го обработите, както е посочено в ръководството за потребителя на уреда. Ако уредът покаже, че контролен серум има стойност извън допустимия диапазон, калибрирането трябва да се извърши отново. Предишните резултати ще бъдат коригирани автоматично.

Ако резултатът от контролния серум продължава да е извън допустимия диапазон, свържете се с отдела за научна поддръжка.

Тел: 0039 0577 319554

Факс: 0039 0577 366605

имейл: scientificsupport@diesse.it

10. ТЪЛКУВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Уредът Chorus/Chorus TRIO предоставя полуколичествен резултат в AU/ml посредством крива (зависима от партидата), запаметена от уреда.

Степента на имунитет на тестовия серум може да се интерпретира по следния начин:

ИМУНЕН: когато концентрацията на IgG в пробата е >18 AU/ml

НЕИМУНЕН: ако концентрацията е < 12 AU/ml

СЪМНИТЕЛНО/НЕЕДНОЗНАЧЕН: когато концентрацията е в диапазона 12-18 AU/ml

Титър	Тълкуване на резултатите		Резултат CHORUS
> 40 AU/ml	Висок титър	Титър, съвместим с текуща или скорошна инфекция с <i>M.pneumoniae</i>	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/ml	Умерен титър	Интерпретацията може да бъде направена само след ново вземане на проби 8-15 дни по-късно.	P
≤ 18 AU/ml ≥ 12 AU/ml	Нисък титър		D/E
< 12 AU/ml	Незначителен титър		N

Инструментът сигнализира $>$, когато AU/mL е по-голямо от 100 AU/mL; в този случай разрежете пробата с проба за разреждане/негативна контрола РЕФ 83607 (напр. 1 :3) и повторете теста. Резултатът трябва да се умножи по използваното разреждане.

В случай на съмнителен/нееднозначен резултат повторете теста. Ако резултатът остане съмнителен/нееднозначен, повторете вземането на пробата.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

Отрицателният резултат не изключва микоплазмена инфекция: в случай на клинично съмнение повторете теста след 15 дни.

Серумите, взети по време на острата фаза на инфекцията, могат да бъдат положителни само за антитела от клас IgM. Поради това се препоръчва да се определи и нивото на IgM, като се използва комплектът Mycoplasma IgM (референтен номер 81035). Алтернативно, втора проба, взета 8-14 дни по-късно, ще бъде анализирана за евентуално повишаване на IgG.

Резултатът от теста обаче трябва да бъде оценен заедно с данните от анамнезата на пациента и/или други диагностични изследвания.

12. АНАЛИТИЧНА СПЕЦИФИЧНОСТ

Наличието на потенциални интерференти като PCR, билирубин, ревматоиден фактор, хемолиза и триглицериди в пробата не влияе на резултата от теста.

13. ДИАГНОСТИЧНА ЧУВСТВИТЕЛНОСТ И СПЕЦИФИЧНОСТ

Анализирани са 61 проби, от които 42 са положителни, а 19 отрицателни с комплекта Chorus в сравнение с друг наличен в търговската мрежа комплект. Несъгласуваните резултати бяха анализирани с Western Blot, приет за референтен. Съмнителните проби се считат за положителни. Комплектът на Diesse даде 2 фалшиво положителни резултата.

Резултатите са обобщени в таблицата по-долу :

		Справка		
		+	-	Общо
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Общо	40	21	61

Чувствителност 100.0 % CI_{95%}: 91,2 до 100,0

Специфичност 90.5 % CI_{95%}: 71,1 до 97,3

14. ПРЕЦИЗНОСТ

Таблица 1. Прецизност в рамките на сесията

	Брой повторения	Среден AU/ml	Д.С.	CV%
Номер партида. 475	9	61.0	2.80	4.6
Номер партида. 459	9	45.3	4.90	10.8
Номер партида. 504	9	37.4	4.84	12.9

Таблица 2. Прецизност между сесиите и между партидите

Проба	Среден AU/ml			Среден	D. S.	CV%
	Партида 475	Партида 459	Партида 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. БИБЛИОГРАФИЯ

1. G.B. Wisdom: Ензимно-имунологичен анализ. Клин. Хим. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Протеини, комплексиращи с адезина P1 на *Mycoplasma pneumoniae*. Микробиология (2000), 146, 741-747
3. S.Rotten : Взаимодействие на микоплазмата с клетките на гостоприемника..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Оценка на четири предлагани на пазара имуноглобулин G и IgM-специфични ензимни имуноанализи за диагностика на инфекции с *Mycoplasma pneumoniae*. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Изолиране на адхерентния протеин на *Mycoplasma pneumoniae* чрез фракционирана солубилизация и хроматография с изключване на размера. Biol.Chem, том 369, стр.1295-1299, декември 1988 г.



UPUTE ZA UPORABU

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(HR)

1. KORIŠTENJE

POLUKVANTITIČKO ODREĐIVANJE IGG ANTI-MYKOPLASMA PROTUTIJELA U LJUDSKOM SERUMU JEDNOKRATNIM UREĐAJEM KOJI SE PRIMJENJUJE NA INSTRUMENTE CHORUS I CHORUS TRIO

2. UVOD

Mycoplasma pneumoniae je najčešći uzročnik upale pluća stečene u zajednici, posebno u dobi od 5 do 30 godina; može biti odgovoran za epidemije koje se polako razvijaju jer razdoblje inkubacije varira od 10 do 14 dana, a zaraza uključuje bliske kontakte ili odvojene skupine (škole, vojarne, kućanstva). Upala pluća mikoplazme naziva se i primarna atipična upala pluća ili Eaton agens upala pluća.

M. pneumoniae napada i uništava epitelne stanice sluznice s trepetljikama dišnog sustava. Mikroskopski uzrokuje intersticijsku pneumoniju, bronhitis i bronhiolitis.

U slučajevima upale pluća, s obzirom na učestalost simptoma za različite etiološke uzročnike, potrebna su dodatna dijagnostička sredstva kao što su serološki testovi za dijagnozu akutne infekcije.

Imunološki odgovor, nakon infekcije od Mycoplasma pneumoniae, povezan je s vrstom infekcije: protutijela klase IgM prisutna su češće u slučajevima primarne infekcije, o čemu svjedoči njihov pronalazak kod mlađih pacijenata. Kod starijih bolesnika s većom vjerojatnošću ponovne infekcije, IgM je nizak ili neotkriven; s druge strane, IgA je pokazatelj veće osjetljivosti u infekcijama u tijeku, ponovnim infekcijama ili nedavnim infekcijama.

Specifična protutijela klase A pojavljuju se rano, na početku bolesti i dosežu visoki titar u prva 4 tjedna, a zatim naglo opadaju prije IgG-a i time dopuštaju dijagnozu akutne infekcije čak i samo jednim uzorkovanjem. IgG se pojavljuju nakon IgM-a i IgA, i u prosjeku dostižu svoj vrhunac u 5. tjednu. Visoki titar, praćen značajnim povećanjem između dva vađenja uzorka u razmaku od oko 2 tjedna, omogućuje potvrdu prisutnosti infekcije u tijeku.

3. NAČELO METODE

Test se temelji na neizravnoj metodi testa ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Antigen Mycoplasma, sonificiran i solubiliziran, vezan je za čvrstu fazu. Inkubacijom s razrijeđenim ljudskim serumom specifični imunoglobulini vežu se za antigen. Nakon pranja kako bi se uklonili proteini koji nisu reagirali, inkubacija se provodi s konjugatom koji se sastoji od ljudskih protu-IgG monoklonskih protutijela konjugiranih peroksidazom iz hrena. Nevezani konjugat se uklanja i peroksidazom se dodaje supstrat.

Plava boja koja se razvija proporcionalna je koncentraciji specifičnih protutijela prisutnih u testnom serumu.

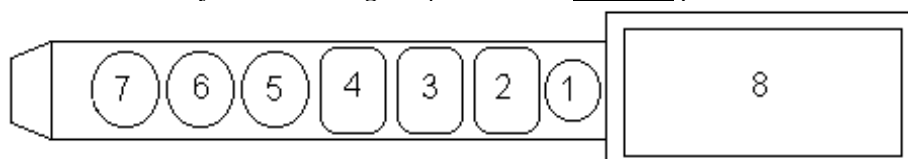
Jednokratni uređaji sadrže sve reagense za izvođenje testa kada se primjenjuju na Instrumente Chorus/Chorus TRIO. Rezultat je izražen u AU/ml izračunat upućivanjem na unutarnju standardnu krivulju.

4. SASTAV KOMPLETA I PRIPREMA REAGENSA

Komplet je dovoljan za 36 određivanja.

DD UREĐAJI 6 paketa svaki od 6 uređaja

Uporaba: uravnotežite jednu vrećicu na sobnoj temperaturi, otvorite vrećicu, izvadite potrebne uređaje; stavite ostale u vrećicu koja sadrži silika-gel, ispustite zrak i **zatvorite** pritiskom na zatvaranje. Čuvajte na 2/8 °C.



Opis:

Položaj 8: Prostor dostupan za oznaku crtičnog koda

Položaj 7: prazno

Položaj 6: JAŽICA MIKROPLOČICE senzibilizirana s *Mycoplasma pneumoniae*.

Položaj 5: JAZICA MIKROPLOČICE nije senzibilizirana.

Položaj 4: TMB SUPSTRAT

Sadržaj: Tetrametilbenzidin 0,26 mg/mL i H₂O₂ 0,01% stabiliziran u citratnom puferu 0,05 mol/L (pH 3,8)

Položaj 3: RAZRJEĐIVAČ ZA UZORKE

Sadržaj: Proteinska otopina, koja sadrži fenol 0,05%, Bronidox 0,02% i pokazatelj koji otkriva prisutnost seruma.

Položaj 2: KONJUGAT

Sadržaj: Ljudska monoklonska protutijela IgG označena peroksidazom, u otopini fosfatnog pufera koja sadrži 0,05% fenola i 0,02% Bronidoxa.

Položaj 1: PRAZNA JAMICA gdje korisnik mora razdijeliti nerazrijeđeni serum.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,425 mL

Sadržaj: Razrijeđen ljudski serum, u poznatoj koncentraciji protutijela s Proclinom i Gentamicinom, tekući, spreman za uporabu.

CONTROL + POZITIVNA KONTROLA 1 x 0,425 mL

Sadržaj: Razrijeđen ljudski serum, u poznatoj koncentraciji protutijela s Proclinom i Gentamicinom, tekući, spreman za uporabu.

OSTALI ZATRAŽENI MATERIJAL, ALI NIJE DOSTAVLJEN.

- WASHING BUFFER / PUFER ZA ISPIRANJE **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 / OTOPINA ZA ČIŠĆENJE **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION / OTOPINA ZA DEZINFEKCIJU **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT / NEGATIVNA KONTROLA RAZRJEĐIVAČ UZORKA **REF** 83607
- Destilirana ili deionizirana voda
- Normalna laboratorijska staklena oprema: cilindri, epruvete itd.
- Mikro pipete u stanju točno preuzeti volumene od 50-200 µl
- Jednokratne rukavice
- 5% otopina natrijevog hipoklorita
- Spremnici za prikupljanje potencijalno zaraženih materijala

5. NAČIN ČUVANJA I STABILNOST REAGENSA

Reagense treba čuvati na 2/8 °C. U slučaju nepravilne temperature skladištenja kalibracija se mora ponoviti, a ispravnost rezultata provjeriti pomoću kontrolnog seruma (vidi poglavlje 9. validacija testa).

Datum isteka je otisnut na svakoj komponenti i na vanjskoj etiketi pakiranja.

Reagensi imaju ograničenu stabilnost nakon otvaranja i/ili pripreme:

UREĐAJI	8 tjedana na 2/8 °C
KALIBRATOR	8 tjedana na 2/8 °C
POZITIVNA KONTROLA	8 tjedana na 2/8 °C

6. MJERE OPREZA

SAMO ZA IN VITRO DIJAGNOSTIČKU UPORABU.

Pozor:

Ovaj komplet sadrži materijale ljudskog podrijetla koji su testirani i utvrđeni negativni s testovima odobrenim od strane FDA (Uprave za hranu i lijekove) za HbsAg i anti-HIV-1, anti-HIV-2 i anti-HCV protutijela. Budući da nijedan dijagnostički test ne može ponuditi potpuno jamstvo odsutnosti infektivnih agensa, svi materijali ljudskog podrijetla moraju se smatrati potencijalno zaraženim. Sa svim reagensima mora se postupati u skladu sa sigurnosnim standardima koji se obično usvajaju u laboratoriju.

Odlaganje ostataka: uzorci seruma, kalibratori i rabljene trake moraju se tretirati kao zaraženi ostaci i stoga se moraju zbrinuti u skladu s odredbama važećih zakona.

Upozorenja o osobnoj sigurnosti

1. Ne pipetirati ustima. Prilikom rukovanja uzorcima koristite jednokratne rukavice i zaštitu za oči. Temeljito operite ruke nakon što se uređaji umetnu u instrument CHORUS/CHORUS TRIO.
2. Sljedeći reagensi sadrže niske koncentracije štetnih ili iritantnih tvari:
 - a) Konjugat sadrži fenol
 - b) Supstrat je kiseli
 Ako reagens dođe u dodir s kožom ili očima, temeljito operite vodom.

3. Neutralizirane kiseline i drugi tekući otpad moraju se dezinficirati dodavanjem natrijevog hipoklorita u dovoljnoj količini kako bi se dobila konačna koncentracija od najmanje 1%. Izloženost natrijevom hipokloritu na 1% tijekom 30 minuta je obično dovoljna kako bi se osigurala učinkovita dezinfekcija.
4. Svako izlijevanje potencijalno zaraženog materijala mora se odmah ukloniti upijajućim papirom, a zagađeno područje mora se očistiti, na primjer s 1% natrijevog hipoklorita, prije nastavka rada. Ako je prisutna kiselina, natrijev hipoklorit se ne smije koristiti prije nego što se područje osuši. Svi materijali koji se upotrebljavaju za čišćenje svih slučajnih izlijevanja, uključujući rukavice, moraju se odbaciti kao potencijalno zaraženi otpad. Nemojte stavljati u autoklavu materijale koji sadrže natrijev hipoklorit.

Analitička upozorenja

Prije uporabe pobrinite se da uređaji koji će se koristiti dostignu sobnu temperaturu (18-30 °C) i upotrijebite u roku od 60 minuta.

1. **Odbacite uređaje čiji je supstrat (jažica 4) plave boje.**
2. Prilikom dodavanja uzorka u jažicu provjerite da je besprijekorno raspoređen na dnu.
3. Provjerite stvarnu prisutnost reagensa u uređaju i cjelovitost samog uređaja, nemojte koristiti uređaje kojima nedostaje neki reagens prilikom vizualnog pregleda.
4. Uređaji se moraju koristiti zajedno s instrumentom Chorus/Chorus TRIO, strogo slijedeći Upute za uporabu i Priručnik instrumenta
5. Provjerite je li instrument Chorus/Chorus TRIO ispravno postavljen (pogledajte Priručnik za uporabu Chorus).
6. Nemojte mijenjati crtični kod postavljen na ručku uređaja kako biste omogućili ispravno očitavanje instrumenta.
7. Neispravni crtični kodovi mogu se unijeti ručno u instrument.
8. Ne izlažite uređaje jakoj rasvjeti ili pari hipoklorita tijekom skladištenja i uporabe.
9. Uporaba jako hemoliziranih uzoraka ili uzoraka koji predstavljaju mikrobnog onečišćenje može biti izvor pogrešaka.
10. Prije umetanja uređaja u instrument Chorus/Chorus TRIO, uvjerite se da reakcijska jažica ne sadrži strana tijela.
11. Pipetirajte testni serum (50 µl) u jažicu 1 uređaja (vidi sliku).
12. Ne koristiti uređaj nakon datuma isteka

7. VRSTA UZORAKA I ČUVANJE

Uzorak čini serum dobiven iz krvi uzete normalnom venepunkcijom i obrađene prema potrebi standardnim laboratorijskim postupcima. Svježi serum se može čuvati 4 dana na 2/8 °C; za dulja razdoblja čuvanja zamrznuti na -20 °C. Izbjegavajte uporabu zamrzivača koji se sami odmrzavaju za čuvanje uzoraka. Uzorak može proći do najviše 3 odmrzavanja. Nakon odmrzavanja pažljivo protresite prije doziranja. Na kvalitetu uzorka može ozbiljno utjecati mikroba kontaminacija koja može dovesti do netočnih rezultata.

Jako lipemični uzorci, ikterični, hemolizirani ili zagađeni uzorci ne mogu se koristiti.

Test nije primjenljiv na ljudsku plazmu.

8. POSTUPAK

1. Otvorite omotnicu (strana na kojoj se nalazi zatvaranje na pritisak), uzmite potreban broj uređaja za obavljanje pregleda i pohranite ostale te zatvorite vrećicu nakon što ste ispustili zrak.
2. Vizualno provjerite stanje uređaja u skladu s poglavljem 6 Analitička upozorenja točke 1. i 8.
3. Raspodijelite u jažicu br. 1 svakog uređaja 50 µl nerazrijeđenog seruma koji će se analizirati, pri svakoj promjeni serije koristite uređaj za kalibrator.
4. Unesite uređaje u instrument Chorus/Chorus TRIO. Izvršite kalibraciju (ako je potrebno) i ispitivanje kako je navedeno u Priručniku za uporabu instrumenta.

9. VALIDACIJA TESTA

Koristite kontrolni serum kako biste provjerili ispravnost dobivenog rezultata, obradivši ga kako je navedeno u priručniku za uporabu instrumenta. Ako instrument pokazuje da kontrolni serum ima vrijednost izvan raspona prihvatljivosti, potrebno je ponovno provesti kalibraciju. Gore navedeni rezultati automatski će se ispraviti. Ako je rezultat kontrolnog seruma i dalje izvan raspona prihvatljivosti, obratite se znanstvenoj podršci.

Tel: 0039 0577 319554
 Faks: 0039 0577 366605
 E- scientificsupport@diesse.it
 pošta:

10. TUMAČENJE REZULTATA

Instrument Chorus/Chorus TRIO daje polukvantitativni rezultat u AU/mL, pomoću krivulje (ovisno o proizvodnoj seriji) kojeg pohranjuje instrument.

Stupanj imuniteta seruma koji se ispituje može se protumačiti na sljedeći način:

IMUN: kada je koncentracija IgG-a u uzorku >18 AU/mL

NIJE IMUN: ako je koncentracija < 12 AU/mL

SUMNJIV/DVOSMISLEN: kada je koncentracija u rasponu 12-18 AU/mL

Naslov	Tumačenje rezultata		Rezultat CHORUS
> 40 AU/mL	Visoki titar	Titar kompatibilan s nedavnom ili infekcijom <i>M. pneumoniae</i> u tijeku	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Umjereni titar	Tumačenje se može obaviti tek nakon još jednog vađenja nakon 8-15 dana.	P
≤ 18 AU/mL ≥12 AU/mL	Nizak titar		D/E
< 12 AU/mL	Neznatan titar		N

Alat izvješćuje > kada je AU/mL veći od 100 AU/mL; u tom slučaju razrijedite uzorak otopinom Sample Diluent/Negative Control [REF] 83607 (npr. 1:3) i ponovite test. Rezultat treba pomnožiti s korištenim razrjeđivanjem. U slučaju dvojnog/dvosmislenog rezultata ponovite test. Ako rezultat ostane upitan/dvosmislen, ponovite vađenje.

11. OGRANIČENJA POSTUPKA

Negativan rezultat ne isključuje infekciju Mikoplazmom: u slučaju kliničke sumnje ponovite vađenje nakon 15 dana.

Serumi uzeti tijekom akutne faze infekcije mogu biti pozitivni samo na protutijela klase IgM. Stoga je preporučljivo odrediti i razinu IgM pomoću kompleta Mycoplasma IgM (ref 81035). Umjesto toga, analizirat će se drugi uzorak uzet 8-14 dana kasnije kako bi se provjerilo moguće povećanje IgG-a.

Međutim, rezultat testa se mora procijeniti zajedno s podacima iz povijesti pacijenta i/ili drugih dijagnostičkih istraživanja.

12. ANALITIČKA SPECIFIČNOST

Prisutnost u uzorku potencijalnih ometajućih sredstava kao što su PCR, bilirubin, reumatoidni faktor, hemoliza i trigliceridi ne utječe na rezultat ispitivanja.

13. DIJAGNOSTIČKA OSJETLJIVOST I SPECIFIČNOST

Analizirano je 61 uzoraka, od kojih je 42 bilo pozitivnih, a 19 negativnih s kompletom Chorus u usporedbi s drugim kompletima dostupnim na tržištu. Rezultati koji se ne podudaraju su analizirani tako da se test Western Blot smatra referencom. Sumnjivi uzorci smatrani su pozitivnima. Komplet Diesse dao je 2 lažno pozitivna rezultata.

Rezultati su sažeti u sljedećoj tablici:

		Referenca		
		+	-	Ukupno
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Ukupno	40	21	61

Osjetljivost 100.0 % CI_{95%}: 91.2 do 100.0

Specifičnost 90.5 % CI_{95%}: 71.1 do 97.3

14. PRECIZNOST

Tablica 1. Preciznost unutar sesije

	Broj ponavljanja	Prosječno AU/ml	D.S.	CV%
Proizvodna serija 475	9	61.0	2.80	4.6
Proizvodna serija 459	9	45.3	4.90	10.8
Proizvodna serija 504	9	37.4	4.84	12.9

Tablica 2. Preciznost između sesija i serija

Uzorak	Prosječno AU/ml			Prosjek	D. S.	CV%
	Proizvodna serija 475	Proizvodna serija 459	Proizvodna serija 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. BIBLIOGRAFIJA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, str.1295-1299, Prosinac 1988.



KASUTUSJUHEND

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(ET)

1. KASUTAMINE

MÜKOPLASMAVASTASTE IgG ANTIKEHADE POOLKVANTITATIIVNE MÄÄRAMINE INIMESE SEERUMIS CHORUS JA CHORUS TRIO INSTRUMENTIDE KORRAL KASUTATAVATE SEADMEGA

2. SISSEJUHATUS

Mycoplasma pneumoniae on kõige levinum kogukonnas esineva kopsupõletiku etioloogiline haigustekitaja, eriti vanuses 5-30 aastat; see võib põhjustada epideemiaid, mis arenevad aeglaselt, kuna inkubatsiooniperiood on 10-14 päeva ja nakatumine toimub lähedaste kontaktide või eraldatud rühmade (koolid, kasarmud, kodumajapidamised) kaudu. Mükoplasma kopsupõletikku nimetatakse ka primaarseks atüüpiliseks kopsupõletikuks või Eaton'i agendi kopsupõletikuks.

M. pneumoniae ründab ja hävitab hingamisteede limaskesta kiilse epiteelirakke. Mikroskoopiliselt põhjustab see interstitsiaalset kopsupõletikku, bronhiiti ja bronhioliiti.

Kopsupõletiku puhul, arvestades erinevate etioloogiliste tekitajate sümptomite kordumist, on ägeda nakkuse diagnoosimiseks vaja täiendavaid diagnostilisi vahendeid, näiteks seroloogilisi teste.

Mycoplasma pneumoniae infektsiooni järgne immuunvastus näib olevat seotud infektsiooni tüübiga: IgM-klassi antikehad esinevad sagedamini esmase infektsiooni korral, nagu näitab nende esinemine noorematel patsientidel. Vanematel patsientidel, kellel on suurem tõenäosus uuesti nakatuda, on IgM madal või ei ole tuvastatav; seevastu IgA on kõrgeima tundlikkusega marker käimasolevate infektsioonide, kordusinfektsioonide või hiljutiste infektsioonide puhul.

A-klassi spetsiifilised antikehad ilmnevad varakult, haiguse alguses ja saavutavad kõrge tiitri esimese 4 nädala jooksul, seejärel langevad järsult enne IgG, mis võimaldab ägeda nakkuse diagnoosimist isegi ühe vereproovi alusel. IgG ilmub pärast IgM ja IgA, saavutades keskmiselt tippaseme 5. nädalal. Kõrge tiiter, millega kaasneb märkimisväärne tõus kahe umbes 2 nädala tagant võetud proovi vahel, kinnitab käimasoleva nakkuse olemasolu.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Test põhineb ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) põhimõttel.

Soniseeritud ja solubiliseeritud mükoplasma antigeen on seotud tahke faasiga. Lahjendatud inimseerumiga inkubeerimisel seonduvad antigeeniga spetsiifilised immunoglobuliinid. Pärast pesemist, et eemaldada reageerimata valgud, inkubeeritakse konjugaadiga, mis koosneb monoklonaalsetest anti-inimse IgG antikehadest, mis on konjugeeritud mädarõika-peroksidaasiga. Sidumata konjugaat eemaldatakse ja lisatakse peroksidaasi substraat.

Tekkiv sinine värvus on proportsionaalne testseerumis olevate spetsiifiliste antikehade kontsentratsiooniga.

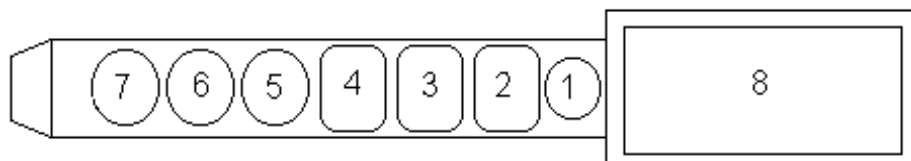
Korduvkasutatavad seadmed sisaldavad kõiki reaktiive, mis on vajalikud Chorus/Chorus TRIO seadmetele rakendades testi läbiviimiseks. Tulemus on väljendatud AU/ml, mis on arvutatud sisemise standardkõvera alusel.

4. KOMPLEKTI KOOSTIS JA REAGENTIDE VALMISTAMINE

Komplektist piisab 36 määramiseks.

DD SEADMED 6 pakki 6 seadmega igaühes

Kasutamine: tasakaalustage kott toatemperatuurini, avage kott, võtke välja vajalikud seadmed; asetage teised silikageeli sisaldavasse kotti, laske õhk välja ja sulgege, vajutades sulgurile. Säilitada temperatuuril 2/8°C.



Kirjeldus:

Positsioon 8: Vaba ruum vöötcode'i etiketi jaoks

Positsioon 7: tühi

Positsioon 6: MIKROPLAADI SÜVEND, mis on sensibiliseeritud *Mycoplasma pneumoniae* antigeeniga.

Positsioon 5: MIKROPLAADI SÜVEND ei ole sensibiliseeritud.

Positsioon 4: TMB SUBSTRAAT

Sisu: Tetrametüülbensidiin 0.26 mg/mL ja H₂O₂ 0.01% stabiliseeritud tsitraadipuhvris 0,05 mol/l (pH 3,8)

Positsioon 3: PROOVIDE LAHJENDAJA

Sisu: Valgulahus, mis sisaldab fenooli 0,05%, Bronidox 0,02% ja indikaatorit seerumi olemasolu tuvastamiseks.

Positsioon 2: KONJUGAAT

Sisu: Peroksidaasiga märgistatud monoklonaalsed anti-inimese IgG antikehad fosfaatpuhvriga lahuses, mis sisaldab 0,05% fenooli ja 0,02% Bronidoxi.

Positsioon 1: TÜHI SÜVEND, kuhu kasutaja peab väljastama lahjendamata seerumi.

KALIBRAATOR KALIBRAATOR 1 x 0,425 ml

Sisu: Lahjendatud inimseerum, tuntud kontsentratsiooniga antikehad koos prokliiniga ja gentamütsiiniga, vedel, kasutusvalmis.

KONTROLL + POSITIIVNE KONTROLL 1 x 0,425 ml

Sisu: Lahjendatud inimseerum, tuntud kontsentratsiooniga antikehad koos prokliiniga ja gentamütsiiniga, vedel, kasutusvalmis.

VAJALIK ON MUU MATERJAL, MIDA POLE KAASAS.

- PESUPUHVVER REF 83606
- PUHASTUSLAHUS 2000 REF 83609
- DESINFITSEERIMISLAHUS REF 83604 - 83608
- KOOR NEGATIIVNE KONTROLL/PROOVI LAHJENDAJA REF 83607
- Destilleeritud või deioniseeritud vesi
- Tavalised laboratoorsed klaastarbed: balloonid, katseklaasid jne.
- Mikropipetid, mis suudavad täpselt võtta 50-200 µl mahte
- Ühekordseks kasutamiseks mõeldud kindad
- 5%-line naatriumhüpokloriidi lahus
- Konteinerid potentsiaalselt nakatunud materjalide kogumiseks

5. REAGENTIDE SÄILITAMISVIISID JA STABIILSUS

Reagentid tuleb säilitada temperatuuril 2/8 °C. Vale säilitustemperatuuri korral tuleb kalibreerimist korrata ja tulemuse õigsust kontrollida kontrollseerumi abil (vt 9. peatükk testi valideerimine).

Aegumiskuupäev on trükitud igale komponendile ja välispakendi etiketile.

Reagentide stabiilsus pärast avamist ja/või valmistamist on piiratud:

SEADMED	8 nädalat temperatuuril 2/8°C
KALIBRAATOR	8 nädalat temperatuuril 2/8°C
POSITIIVNE KONTROLL	8 nädalat temperatuuril 2/8°C

6. ETTEVAATUST

AINULT DIAGNOSTILISEKS KASUTAMISEKS IN VITRO.

Tähelepanu:

See komplekt sisaldab inimpäritolu materjale, mis on testitud ja leitud negatiivseks FDA poolt heakskiidetud testides nii HBsAg kui ka HIV-1-, HIV-2 ja HCV-vastaste antikehade suhtes. Kuna ükski diagnostiline test ei saa anda täielikku garantiid nakkusetekitajate puudumise kohta, tuleb igasugust inimpäritolu materjali pidada potentsiaalselt nakatunuks. Kõiki reagente ja proove tuleb käsitseda vastavalt laboris tavaliselt vastuvõetud ohutusstandarditele.

Jääkidekõrvaldamine: kasutatud seerumiproove, kalibraatoreid ja ribasid tuleb käsitleda kui nakatunud jääke ja seejärel kõrvaldada vastavalt kehtivatele õigusaktidele.

Isikliku ohutuse hoiatused

1. Ärge pipeteerige suu kaudu. Proovide käitlemisel kasutage ühekordselt kasutatavaid kindaid ja silmakaitsevahendeid. Peske oma käed põhjalikult pärast seadmete sisestamist CHORUS/CHORUS TRIO seadmesse.
2. Järgmised reagentid sisaldavad vähesel määral kahjulikke või ärritavaid aineid:
 - a) Konjugaat sisaldab fenooli
 - b) Substraat on happeline

Kui reagent satub nahale või silmadesse, peske seda põhjalikult veega.

3. Neutraliseeritud happed ja muud vedelad jäätmed tuleb desinfitseerida, lisades piisavas koguses naatriumhüpokloriiti, et saavutada lõplik kontsentratsioon vähemalt 1%. Tõhusaks desinfitseerimiseks piisab tavaliselt 1%-lise naatriumhüpokloriidiga kokkupuutest 30 minuti jooksul.
4. Võimalikult nakatunud materjalide lekked tuleb viivitamatult eemaldada absorbeeriva paberiga ja saastunud ala tuleb enne töö jätkamist dekontamineerida, nt 1%-lise naatriumhüpokloriidiga. Happe olemasolu korral ei tohi naatriumhüpokloriidi kasutada enne, kui ala on kuivatatud. Kõik juhusliku lekke kõrvaldamiseks kasutatud materjalid, sealhulgas kindad, tuleb hävitada kui potentsiaalselt nakkusohtlikud jäätmed. Mitte autoklaavida materjale, mis sisaldavad naatriumhüpokloriiti.

Analüütilised hoiatused

Enne kasutamist viige seadmed toatemperatuurile (18-30 °C) ja kasutage 60 minuti jooksul.

1. **Visake ära seadmed, mille substraat (süvend 4) on värvitud siniseks.**
2. Proovi lisamisel süvendisse kontrollige, et see oleks põhjas ideaalselt jaotunud.
3. Kontrollige reagentide tegelikku olemasolu seadmes ja seadme enda terviklikkust, ärge kasutage seadmeid, mille visuaalne kontroll näitab mõne reagenti puudumist.
4. Seadmeid tuleb kasutada koos Chorus/Chorus TRIO seadmega, järgides rangelt seadme kasutusjuhendit ja kasutusjuhendit.
5. Kontrollige, et Chorus/Chorus TRIO instrument oleks õigesti seadistatud (vt Chorus kasutusjuhend).
6. Ärge muutke seadme käepidemel olevat vöötkoodi, et seade saaks seda õigesti lugeda.
7. Defektsed vöötkoodid saab seadmesse käsitsi sisestada.
8. Ärge pange seadmeid hoiustamise ja kasutamise ajal kokku tugeva valguse või hüpokloriidi aurudega.
9. Tugevalt hemolüüsunud proovide või mikroobidega saastunud proovide kasutamine võib olla vigade allikaks.
10. Enne seadme sisestamist Chorus/Chorus TRIO instrumenti veenduge, et reaktsioonisüendis ei sisaldaks võõrkehi.
11. Pipeteerige testseerum (50 µl) seadme süvendis 1 (vt joonis).
12. Ärge kasutage seadet pärast kõlblikkusaega

7. PROOVIDE TÜÜP JA SÄILITAMINE

Prooviks on seerum, mis on saadud tavalise veenipunktsiooni teel võetud verest ja mida käideldakse vastavalt standardsetele laboratoorsetele protseduuridele. Värsket seerumit võib säilitada 4 päeva temperatuuril 2/8 °C; pikemaks säilitamiseks külmutage see temperatuuril -20 °C. Vältige isesulatuivate sügavkülmikute kasutamist proovide säilitamiseks. Proov võib läbida maksimaalselt 3 sulatamist. Pärast sulatamist raputage hoolikalt enne doseerimist. Proovi kvaliteeti võib tõsiselt mõjutada mikroobne saastumine, mis võib viia vigaste tulemusteni.

Tugevalt lipaemilisi, ikterilisi, hemolüüsimärgistatud või saastunud proove ei tohi kasutada.

Test ei ole kohaldatav inimese plasma puhul.

8. PROTSEDUUR

1. Avage kott (survetihendit sisaldav pool), võtke välja nii palju seadmeid, kui on vaja uuringute läbiviimiseks, ja hoidke ülejäänud, sulgedes koti pärast õhu väljapumpamist uuesti.
2. Kontrollige seadme seisundit visuaalselt vastavalt peatükis 6 Analüütilised hoiatused punktides 1 ja 8 toodud juhistele.
3. Iga seadme süvendis nr 1 doseeritakse 50 µl analüüsivat lahjendamata seerumit, iga partii vahetuse korral kasutatakse kalibraatorseadet.
4. Sisestage seadmed Chorus/Chorus TRIO instrumenti. Viige läbi kalibreerimine (kui see on vajalik) ja testimine vastavalt seadme kasutusjuhendile.

9. TESTI VALIDEERIMINE

Kasutage saadud tulemuse õigsuse kontrollimiseks kontrollseerumit, töödeldes seda vastavalt seadme kasutusjuhendile. Kui seade näitab, et kontrollseerumi väärtus jääb väljapoole lubatud vahemikku, tuleb kalibreerimine uuesti läbi viia. Varasemad tulemused parandatakse automaatselt.

Kui kontrollseerumi tulemus jääb jätkuvalt vastuvõetavast vahemikust välja, võtke ühendust teadusliku toega.

Tel: 0039 0577 319554

Faks: 0039 0577 366605

e-post: scientificsupport@diesse.it

10. TULEMUSTE TÕLGENDAMINE

Chorus/Chorus TRIO seade annab poolkvalitatiivse tulemuse AU/ml, kasutades seadme poolt salvestatud (partiist sõltuvat) kõverat.

Testseerumi immuunsuse astet võib tõlgendada järgmiselt:

IMMUUNNE: kui IgG kontsentratsioon proovis on >18 AU/ml.

MITTEIMMUUNNE: kui kontsentratsioon on < 12 AU/ml.

KAHTLANE/KAHEMÕTTELINE: kui kontsentratsioon on vahemikus 12-18 AU/ml.

Tiiter	Tulemuste tõlgendamine		CHORUS tulemus
> 40 AU/ml	Kõrge tiiter	Pealkiri, mis on kooskõlas käimasoleva või hiljutise M.pneumoniae infektsiooniga.	P
≤ 40 AU/ml >18 AU/ml	Mõõdukas tiiter	Tõlgendamine on võimalik alles pärast 8-15 päeva hiljem võetud uut proovi.	P
≤ 18 AU/ml ≥12 AU/ml	Madal tiiter		D/E
< 12 AU/ml	Mittetähtsustatav väärne tiiter		N

Seade annab signaali >, kui AU/ml on üle 100 AU/ml; sel juhul lahjendage proovi proovi lahjendaja/negatiivse kontrolliga REF 83607 (nt. 1 :3) ja korrake testi. Tulemus tuleb korrutada kasutatud lahjendusega.

Kahtlase/kahemõttelise tulemuse korral korrake testi. Kui tulemus jääb kahtlaseks/kahemõtteliseks, korrake proovivõtmist.

11. PROTSEDUURI PIIRANGUD

Negatiivne tulemus ei välista mükoplasmainfektsiooni: kliinilise kahtluse korral korrake testi 15 päeva hiljem.

Nakkuse ägeda faasi ajal võetud seerumid võivad olla positiivsed ainult IgM-klassi antikehade suhtes. Seetõttu on soovitatav määrata ka IgM tase, kasutades Mycoplasma IgM komplekti (ref 81035). Alternatiivina analüüsitakse 8-14 päeva hiljem võetud teist proovi võimaliku IgG sisalduse suurenemise suhtes.

Testitulemust tuleb siiski hinnata koos patsiendi anamneesis ja/või muudes diagnostilistes uuringutes saadud andmetega.

12. ANALÜÜTILINE SPETSIIFILISUS

Võimalike häirivate ainete, nagu PCR, bilirubiin, reumafaktor, hemolüüs ja triglütseriidid, olemasolu proovis ei mõjuta testi tulemust.

13. DIAGNOSTILINE TUNDLIKKUS JA SPETSIIFILISUS

Analüüsiti 61 proovi, millest 42 olid positiivsed ja 19 negatiivsed Chorus komplektiga võrreldes teise kaubanduslikult kättesaadava komplektiga. Erinevusi analüüsiti Western Blot'i abil, mida peeti võrdluseks. Kahtlased proovid loeti positiivseks. DIESSE'i komplekt andis 2 valepositiivset tulemust.

Tulemused on kokkuvõtlikult esitatud alljärgnevas tabelis :

		Viide		
		+	-	Kokku
DIESE	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Kokku	40	21	61

Tundlikkus 100.0 % CI_{95%}: 91.2 kuni 100.0

Spetsiifika 90.5 % CI_{95%}: 71.1 kuni 97.3

14. TÄPSUS

Tabel 1. Täpsus seansi jooksul

	Korduste arv	Keskmine AU/ml	D.S.	CV%
Partii nr. 475	9	61.0	2.80	4.6

Partii nr. 459	9	45.3	4.90	10.8
Partii nr. 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabel 2. Täpsus seansside ja partiide vahel

Näide	Keskmine AU/ml			Keskmine	D. S.	CV%
	Partii 475	Partii 459	Partii 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. BIBLIOGRAAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

NUOR 81034

(LT)

1. NAUDOJIMAS

PUSIAU KIEKYBINIS IgG ANTIKŪNIŲ PRIEŠ MYCOPLASMA NUSTATYMAS ŽMOGAUS SERUME NAUDOJANT VIENKARTINĘ PRIEMONĘ, DEDAMĄ Į „CHORUS“ IR „CHORUS TRIO“ INSTRUMENTUS

2. IVADAS

Mycoplasma pneumoniae yra dažniausias visuomenėje įgytos pneumonijos sukėlėjas, ypač 5–30 metų amžiaus grupėje; jis gali sukelti epidemijas, kurios vystosi lėtai, nes inkubacinis periodas svyruoja nuo 10 iki 14 dienų, o užsikrečiama per artimus kontaktus arba izoliuotas grupes (mokyklose, kareivinėse, namų ūkiuose). Mikoplazminė pneumonija dar vadinama pirmine atipine pneumonija arba Itono sukelta pneumonija.

M. pneumoniae puola ir naikina kvėpavimo takų gleivinės plakuotąsias epitelio ląsteles. Mikroskopiškai ji sukelia intersticinę pneumoniją, bronchitą ir bronchiolitą.

Pneumonijos atvejais, atsižvelgiant į tai, kad simptomai kartojasi dėl įvairių etiologinių sukėlėjų, ūminei infekcijai diagnozuoti reikia papildomų diagnostikos priemonių, pavyzdžiui, serologinių tyrimų.

Atrodo, kad imuninis atsakas po užsikrėtimo *Mycoplasma pneumoniae* yra susijęs su pačios infekcijos tipu: IgM klasės antikūnai dažniau būna pirminės infekcijos atvejais, kaip rodo jų nustatymas jaunesniuose pacientuose. Vyresnio amžiaus pacientams, kuriems yra didesnė pakartotinės infekcijos tikimybė, IgM kiekis yra mažas arba neaptinkamas; priešingai, IgA yra jautresnis žymuo vykstančių infekcijų, pakartotinių infekcijų arba neseniai įvykusių infekcijų nustatymo atveju.

A klasės specifiniai antikūnai atsiranda anksti, ligos pradžioje, ir per pirmąsias 4 savaites pasiekia aukštą titrą, vėliau staiga sumažėja iki IgG, todėl ūmią infekciją galima diagnozuoti net iš vieno kraujo mėginio. IgG pasirodo po IgM ir IgA, vidutiniškai pasiekia piką 5-ą savaitę. Didelis titras ir žymus jo padidėjimas tarp dviejų mėginių, paimtų maždaug 2 savaičių intervalu, patvirtina, kad infekcija tęsiasi.

3. METODO PRINCIPAS

Tyrimas pagrįstas ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) principu.

Sonikuotas ir ištirpintas mikoplazmos antigenas prisijungia prie kietosios fazės. Inkubuojant su praskiestu žmogaus serumu, specifiniai imunoglobulinai prisijungia prie antigeno. Po plovimo norint pašalinti nesureagavusius baltymus, inkubuojama su konjugatu, sudarytu iš monokloninių žmogaus IgG antikūnų, konjuguotų su krienų peroksidaze. Neprijungęs konjugatas pašalinamas ir pridedama peroksidazės substrato.

Išsiskirianti mėlyna spalva yra proporcinga specifinių antikūnų koncentracijai tiriamajame serume.

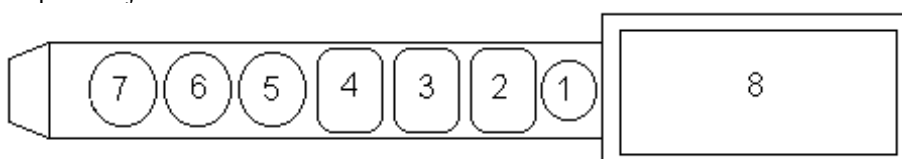
Vienkartinėse priemonėse yra visi reagentai, reikalingi tyrimui atlikti, kai jie naudojami „Chorus“ / „Chorus TRIO“ instrumentuose. Rezultatas išreiškiamas AU/ml, apskaičiuotais pagal vidinę standartinę kreivę.

4. RINKINIO SUDĖTIS IR REAGENTŲ PARUOŠIMAS

Rinkinio pakanka 36 tyrimams atlikti.

DD PRIEMONĖS 6 pakuotės po 6 priemonės kiekvienoje

Naudojimas: leiskite maišeliui įšilti iki kambario temperatūros, atidarykite maišelį, išimkite reikiamas priemones; kitas įdėkite į maišelį su silikageliu, išleiskite orą ir užsandarinkite paspausdami užraktą. Laikykite 2/8 °C temperatūroje.



Aprašymas:

8 pozicija: Etiketėi su brūkšniniu kodu skirta vieta

7 pozicija: tuščia

6 pozicija: MIKROPLOKŠTELĖS DUOBUTĖ, jautri *Mycoplasma pneumoniae* antigenui.

5 pozicija: MIKROPLOKŠTELĖS DUOBUTĖ nejautri.

4 pozicija: TMB SUBSTRATAS

Turiny: Tetrametilbenzidinas 0,26 mg/ml ir H₂O₂ 0,01 %, stabilizuoti citrato buferiniame tirpale 0,05 mol/l (pH 3,8)

3 pozicija: SKIEDIKLIS MĖGINIAMS

Turiny: Baltyminis tirpalas, kuriame yra 0,05 % fenolio, 0,02 % bronidokso ir indikatorius serumui nustatyti.

2 pozicija: KONJUGATAS

Sudėtis: peroksidaze žymėti monokloniniai žmogaus IgG antikūnai fosfatiniame buferiniame tirpale, kuriame yra 0,05 % fenolio ir 0,02 % bronidokso.

1 pozicija: TUŠČIA DUOBUTĖ, į kurią naudotojas turi išpilti neskiestą serumą.

CALIBRATOR KALIBRATORIUS 1 x 0,425 ml

Turiny: Praskiestas žmogaus serumas, žinoma antikūnų koncentracija su proklinu ir gentamicinu, skystas, paruoštas naudoti.

CONTROL + TEIGIAMA KONTROLINĖ PRIEMONĖ 1 x 0,425 ml

Turiny: Praskiestas žmogaus serumas, žinoma antikūnų koncentracija su proklinu ir gentamicinu, skystas, paruoštas naudoti.

KITA REIKALINGA, BET NETIEKIAMA MEDŽIAGA.

- PLOVIMO BUFERINIS TIRPALAS **NUOR** 83606
- VALYMO TIRPALAS 2000 **NUOR** 83609
- HIGIENIZAVIMO TIRPALAS **NUOR** 83604 - 83608
- „CHORUS“ NEIGIAMAS KONTROLINIS SERUMAS / MĖGINIO SKIEDIKLIS **NUOR** 83607
- Distiliuotas arba dejonizuotas vanduo
- Įprasti laboratoriniai stikliniai indai: cilindrai, mėgintuvėliai ir kt.
- Mikropipetės, kuriomis galima tiksliai paimti 50–200 µl tūrio.
- Vienkartinės pirštinės
- 5 % natrio hipochlorito tirpalas
- Talpyklos potencialiai užkrėstoms medžiagoms rinkti

5. REAGENTŲ LAIKYMAS IR STABILUMAS

Reagentai turi būti laikomi 2/8 °C temperatūroje. Neteisingos laikymo temperatūros atveju kalibravimas turi būti pakartotas, o rezultatų teisingumas patikrintas naudojant kontrolinį serumą (žr. 9 skyrių „Tyrimo patvirtinimas“).

Tinkamumo naudoti terminas yra atspausdintas ant kiekvieno komponento ir išorinės pakuotės etiketės.

Atidarius ir (arba) paruošus reagentus, jų stabilumas yra ribotas:

PRIEMONĖS	8 savaites 2/8 °C temperatūroje
KALIBRATORIUS	8 savaites 2/8 °C temperatūroje
TEIGIAMAS KONTROLINIS SERUMAS	8 savaites 2/8 °C temperatūroje

6. ATSARGUMO PRIEMONĖS

TIK IN VITRO DIAGNOSTIKAI.

Dėmesio:

Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės medžiagų, kurios buvo ištirtos ir gautas neigiamas rezultatas atlikus FDA patvirtintus tyrimus ieškant HBsAg ir anti-ŽIV 1, anti-ŽIV 2 bei anti-HCV antikūnų. Kadangi joks diagnostinis tyrimas negali visiškai užtikrinti, kad infekcijos sukėlėjų nėra, bet kokia žmogaus kilmės medžiaga turi būti laikoma potencialiai užkrėsta. Visi reagentai ir mėginiai turi būti tvarkomi laikantis laboratorijoje įprastų saugos taisyklių.

Likučių šalinimas: panaudoti serumo mėginiai, kalibratoriai ir juostelės turi būti laikomi infekuotomis atliekomis ir šalinami pagal taikomus įstatymų nuostatus.

Asmeninės saugos įspėjimai

1. Pipete nelašinkite į burną. Dirbdami su mėginiais mūvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite akių apsaugos priemones. Kruopščiai nusiplaukite rankas po to, kai įdėjote priemones į „CHORUS“ / „CHORUS TRIO“ instrumentą.
2. Toliau išvardytuose reagentuose yra nedidelė kenksmingų ar dirginančių medžiagų koncentracija:

- a) Konjugato sudėtyje yra fenolio
 - b) Substratas yra rūgštinis
- Reagentui patekus ant odos ar į akis, kruopščiai nuplaukite vandeniu.
3. Neutralizuotos rūgštys ir kitos skystos atliekos turi būti dezinfekuojamos įpilant natrio hipochlorito tiek, kad galutinė koncentracija būtų ne mažesnė, kaip 1 %. Veiksmingai dezinfekcijai užtikrinti paprastai užtenka 1 % natrio hipochlorito poveikio 30 minučių.
 4. Bet koks galimai užkrėstų medžiagų išsiliejimas turi būti nedelsiant pašalintas sugeriamuoju popieriumi, o prieš tęsiant darbą, užteršta vieta turi būti išvalyta, pvz., 1 % natrio hipochloritu. Jei yra rūgštis, natrio hipochlorito negalima naudoti tol, kol vieta neišdžiovinama. Visos medžiagos, naudojamos atsitiktiniams išsiliejimams išvalyti, įskaitant pirštines, turi būti išmetamos kaip potencialiai užkrečiamos atliekos. Negalima autoklavuoti medžiagų, kurių sudėtyje yra natrio hipochlorito.

Analitiniai įspėjimai

Prieš naudodami, prietaisus palaikykite kambario temperatūroje (18–30 °C) ir panaudokite per 60 minučių.

1. **Išmeskite prietaisus, kurių substratas (4 duobutė) nuspalvintas mėlyna spalva.**
2. Įpilkite mėginį į duobutę ir patikrinkite, ar jis puikiai pasiskirstė ant dugno.
3. Patikrinkite, ar priemonėje iš tikrųjų yra reagentų, ir pačios priemonės sveikumą, nenaudokite prietaisų, kuriuose, vizualiai patikrinus, trūksta tam tikro reagento.
4. Prietaisai turi būti naudojami kartu su „Chorus“ / „Chorus TRIO“ instrumentu, griežtai laikantis instrumento naudojimo instrukcijų ir vadovo
5. Patikrinkite, ar teisingai nustatytas „Chorus“ / „Chorus TRIO“ instrumentas (žr. „Chorus“ naudojimo vadovą).
6. Nekeiskite ant prietaiso rankenos esančio brūkšninio kodo, kad prietaisas jį teisingai nuskaitytų.
7. Defektinius brūkšninius kodus į prietaisą galima įvesti rankiniu būdu.
8. Laikydami ir naudodami priemones, saugokite jas nuo stipraus apšvietimo ir hipochlorito garų.
9. Klaidų gali atsirasti naudojant stipriai hemolizuotus mėginius arba mėginius, užterštus mikrobais.
10. Prieš įdėdami priemonę į „Chorus“ / „Chorus TRIO“ prietaisą, įsitikinkite, kad reagavimo duobutėje nėra jokių svetimų kūnų.
11. Į priemonės 1 duobutę pipete įpilkite tiriamąjį serumą (50 µl) (žr. paveikslėlį).
12. Nenaudokite priemonės pasibaigus galiojimo laikui

7. MĖGINIO TIPAS IR LAIKYMAS

Šis mėginys yra serumas, gautas iš kraujo, paimto įprastinės venos punkcijos būdu, ir tvarkomas pagal standartines laboratorines procedūras. Šviežus serumas gali būti laikomas 4 dienas 2/8 °C temperatūroje; jei norite jį laikyti ilgiau, užšaldykite -20 °C temperatūroje. Mėginiams laikyti nenaudokite automatiškai atitirpstančių šaldiklių. Mėginys gali būti atšildytas ne daugiau, kaip 3 kartus. Atšildytą preparatą kruopščiai suplakite prieš dozuodami. Mėginio kokybei didelę įtaką gali turėti mikrobinė tarša, dėl kurios rezultatai gali būti klaidingi.

Negalima naudoti stipriai lipeminių, ikterinių, hemolizuotų ar užterštų mėginių.

Tyrimas netaikomas žmogaus plazmai.

8. PROCEDŪRA

1. Atidarykite maišelį (pusėje, kurioje yra slėginis užraktas), išimkite tyrimams atlikti reikalingą skaičių priemonių, o kitas pasilikite, vėl uždarę maišelį ir išleidę orą.
2. Vizualiai patikrinkite priemonės būklę pagal 6 skyriaus „Analitiniai įspėjimai“ 1 ir 8 punktuose pateiktus nurodymus.
3. Į kiekvienos priemonės 1 duobutę įpilkite 50 µl neskiesto serumo, kurį reikia ištirti, ir kiekvieną kartą keisdami seriją naudokite kalibravimo prietaisą.
4. Įdėkite priemones į „Chorus“ / „Chorus TRIO“ instrumentą. Atlikite kalibravimą (jei reikia) ir tyrimą pagal priemonės naudojimo instrukciją.

9. TYRIMO PATVIRTINIMAS

Kontroliniu serumu patikrinkite gauto rezultato teisingumą ir apdorokite jį taip, kaip nurodyta priemonės naudotojo vadove. Jei instrumentas rodo, kad kontrolinio serumo vertė yra už leistino intervalo ribų, kalibravimas turi būti atliekamas iš naujo. Ankstesni rezultatai bus pataisyti automatiškai.

Jei kontrolinio serumo rezultatas ir toliau neatitinka leistino intervalo, kreipkitės į mokslinę tarnybą.

Tel.: 0039 0577 319554
 Faksas: 0039 0577 366605
 el. scientificsupport@diesse.it
 paštas:

10. REZULTATŲ AIŠKINIMAS

Instrumentas „Chorus“ / „Chorus TRIO“ pateikia pusiau kiekybinį rezultatą AU/ml pagal instrumento išsaugotą (nuo partijos priklausančią) kreivę.

Tiriamo serumo imuniteto laipsnį galima aiškinti taip:

ATSPARUS: kai IgG koncentracija mėginyje yra >18 AU/ml

NEATSPARUS: kai koncentracija yra < 12 AU/ml

ABEJOTINAS / NEAIŠKUS: kai koncentracija yra 12–18 AU/ml.

Pavadinimas	Rezultatų aiškinimas		„CHORUS“ rezultatas
> 40 AU/ml	Didelis kiekis	Kiekis, atitinkantis vykstančią arba neseniai persirgtą <i>M. pneumoniae</i> infekciją	P
≤ 40 AU/ml >18 AU/ml	Vidutinis kiekis	Išsiaiškinti galima tik paėmus kitą mėginį po 8–15 dienų.	P
≤ 18 AU/ml ≥12 AU/ml	Mažas kiekis		D/E
< 12 AU/ml	Nereikšmingas kiekis		N

Instrumentas signalizuoja >, kai AU/ml yra daugiau kaip 100 AU/ml; tokiu atveju, praskieskite mėginį mėginio skiedikliu / neigiamu kontroliniu serumu **NUOR.** 83607 (pvz. 1 :3) ir pakartokite tyrimą. Gautą rezultatą reikia padauginti iš naudoto praskiedimo.

Jei rezultatas abejotinas / neaiškus, pakartokite tyrimą. Jei rezultatas abejotinas / neaiškus, pakartokite mėginių ėmimą.

11. PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

Neigiamas rezultatas neatmeta mikoplazminės infekcijos tikimybės: kilus klinikiniam įtarimui, tyrimą pakartokite po 15 dienų.

Ūminės infekcijos fazės metu paimti serumai gali būti teigiami tik IgM klasės antikūnams. Todėl rekomenduojama taip pat nustatyti IgM kiekį, naudojant mikoplazmos IgM rinkinį (nuoroda 81035). Arba po 8–14 dienų paimtas antras mėginys bus tiriamas dėl galimo IgG kiekio padidėjimo.

Tačiau tyrimo rezultatas turi būti vertinamas kartu su paciento anamnezės ir (arba) kitų diagnostinių tyrimų duomenimis.

12. ANALITINIS SPECIFIŠKUMAS

Jei mėginyje yra galimų trukdžių, tokių kaip PGR, bilirubinas, reumatoidinis faktorius, hemolizė ir trigliceridai, tai neturi įtakos tyrimo rezultatui.

13. DIAGNOSTINIS JAUTRUMAS IR SPECIFIŠKUMAS

Buvo ištirtas 61 mėginys, iš kurių 42 buvo teigiami, o 19 – neigiami, naudojant „Chorus“ rinkinį, palyginti su kitu komerciniu rinkiniu. Nesutampantys rezultatai buvo analizuojami naudojant „Western Blot“, kuris laikomas etaloniniu. Abejotini mėginiai buvo laikomi teigiamais. „Diesse“ rinkinys davė 2 klaidingai teigiamus rezultatus.

Rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje:

		Nuoroda		
		+	-	Iš viso
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Iš viso	40	21	61

Jautrumas 100.0 % CI₉₅ %: nuo 91.2 iki 100.0

Specifiškumas 90.5 % CI₉₅ %: nuo 71.1 iki 97.3

14. TIKSLUMAS**1 lentelė. Tikslumas sesijos vietoje**

	Pakartojimų skaičius	Vidutinis AU/ml	D.S.	CV%
Partijos Nr. 475	9	61.0	2.80	4.6
Partijos Nr. 459	9	45.3	4.90	10.8
Partijos Nr. 504	9	37.4	4.84	12.9

2 lentelė. Tikslumas tarp sesijų ir partijų

Pavyzdys	Vidutinis AU/ml			Vidutinis	D. S.	CV%
	Partija 475	Partija 459	Partija 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. BIBLIOGRAFIJA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



INSTRUKCJA OBSŁUGI

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

ODN. 81034

(PL)

1. ZASTOSOWANIE

PÓLILOŚCIOWE OZNACZANIE PRZECIWCIAŁ IgG ANTY MYCOPLASMA W SUROWICY LUDZKIEJ ZA POMOCĄ JEDNORAZOWEGO WYROBU STOSOWANEGO W APARATACH CHORUS I CHORUS TRIO

2. WPROWADZENIE

Mycoplasma pneumoniae jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym zapalenia płuc w społeczności, zwłaszcza w grupie wiekowej od 5 do 30 lat; może być odpowiedzialna za epidemie, które rozwijają się powoli, ponieważ okres inkubacji wynosi od 10 do 14 dni, a zarażenie dotyczy bliskich kontaktów lub grup wydzielonych (szkoły, koszary, gospodarstwa domowe). Mycoplasma pneumoniae jest również nazywana pierwotnym atypowym zapaleniem płuc lub zapaleniem płuc wywołanym przez czynnik Eatona.

M. pneumoniae atakuje i niszczy komórki włoskowate błony śluzowej dróg oddechowych. Mikroskopowo powoduje śródmiąższowe zapalenie płuc, zapalenie oskrzeli i oskrzelików.

W przypadkach zapalenia płuc, biorąc pod uwagę nawroty objawów dla różnych czynników etiologicznych, do rozpoznania ostrego zakażenia niezbędne są dodatkowe środki diagnostyczne, takie jak badania serologiczne.

Odpowiedź immunologiczna po zakażeniu Mycoplasma pneumoniae wydaje się być związana z typem samego zakażenia: przeciwciała klasy IgM są obecne częściej w przypadkach zakażenia pierwotnego, o czym świadczy ich występowanie u młodszych pacjentów. U starszych pacjentów z większym prawdopodobieństwem ponownego zakażenia, zawartość IgM jest niska lub niewykrywalna; w przeciwieństwie do tego, IgA są markerem o najwyższej czułości w trwających zakażeniach, reinfekcjach lub niedawnych zakażeniach.

Swoiste przeciwciała klasy A pojawiają się wcześnie, na początku choroby i osiągają wysokie miano w ciągu pierwszych 4 tygodni, po czym gwałtownie zanikają przed IgG, co pozwala na rozpoznanie ostrego zakażenia nawet na podstawie jednej próbki krwi. IgG pojawia się po IgM i IgA, średnio osiągając szczyt w 5 tygodniu. Wysokie miano, któremu towarzyszy znaczny wzrost między dwoma pobraniami próbek w odstępie około dwóch tygodni, potwierdza obecność trwającego zakażenia.

3. ZASADA METODY

Test oparty jest na technice ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Sonikowany i rozpuszczony antygen Mycoplasma wiąże się z fazą stałą. Poprzez inkubację z rozcieńczoną surowicą ludzką, swoiste immunoglobuliny wiążą się z antygenem. Po płukaniu w celu usunięcia nieprzereagowanych białek przeprowadza się inkubację z koniugatem składającym się z przeciwciał monoklonalnych przeciwko ludzkim IgG znakowanych peroksydazą chrzanową. Niezwiązany koniugat jest usuwany i dodawany jest substrat do peroksydazy.

Powstający kolor jest proporcjonalny do stężenia swoistych przeciwciał obecnych w badanej surowicy.

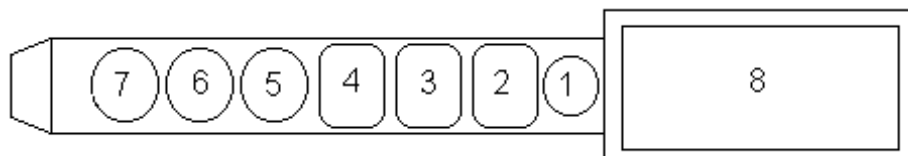
Jednorazowe wyroby zawierają wszystkie odczynniki do wykonania testu po nałożeniu na aparaty Chorus/Chorus TRIO. Wynik wyrażony jest w AU/ml obliczonym w odniesieniu do wewnętrznej krzywej wzorcowej.

4. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Zestaw wystarcza na wykonanie 36 oznaczeń.

DD WYROBY 6 opakowań po 6 wyrobów w każdym

Sposób użycia: **doprowadzić kopertę do temperatury pokojowej**, otworzyć kopertę, wyjąć wymagane urządzenia; pozostałe umieścić w kopercie zawierającej żel krzemionkowy, wypuścić powietrze i **zakleić**, naciskając na zamknięcie. Przechowywać w temperaturze 2/8°C.



Opis:

Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: pusta

Pozycja 6: STUDZIENKA NA MIKROPLYTKĘ uczulona na antygen *Mycoplasma pneumoniae*.

Pozycja 5: STUDZIENKA NA MIKROPLYTKĘ nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

Zawartość: Tetrametylobenzodyna 0,26 mg/ml i H₂O₂ 0,01% stabilizowane w buforze cytrynianowym 0,05 mol/l (pH 3,8)

Pozycja 3: ROZCIENICZALNIK DO PRÓBEK

Zawartość: Roztwór białka, zawierający fenol 0,05%, Bronidox 0,02% oraz wskaźnik do wykrywania obecności surowicy.

Pozycja 2: SKONIUGOWANY

Zawartość: znakowane peroksydazą monoklonalne przeciwciała przeciwko ludzkim IgG w roztworze buforowanym fosforanem zawierającym 0,05% fenol i 0,02% Bronidox.

Pozycja 1: PUSTA STUDZIENKA, gdzie użytkownik musi dozować nierozcieńczone serum.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,425 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka, znane stężenie przeciwciał z Proclinem i Gentamycyną, płynna, gotowa do użycia.

CONTROL + KONTROLA DODATNIA 1 x 0,425 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka, znane stężenie przeciwciał z Proclinem i Gentamycyną, płynna, gotowa do użycia.

INNE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE MATERIAŁY:

- WASHING BUFFER [ODN] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [ODN] 83609
- SANITIZING SOLUTION [ODN] 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [ODN] 83607
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Zwykłe szkło laboratoryjne: cylindry, probówki itp.
- Mikropipety umożliwiające dokładne pobieranie objętości 50-200 µl
- Rękawice jednorazowe
- 5% roztwór podchlorynu sodu
- Pojemniki do zbierania potencjalnie zakażonych materiałów

5. PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW

Odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2/8°C. W przypadku nieprawidłowej temperatury przechowywania kalibrację należy powtórzyć i sprawdzić poprawność wyniku za pomocą surowicy kontrolnej (patrz rozdział 9 Walidacja badania).

Data ważności jest wydrukowana na każdym elemencie oraz na zewnętrznej etykiecie opakowania.

Odczynniki mają ograniczoną stabilność po otwarciu i/lub przygotowaniu:

WYROBY	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
KALIBRATOR	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
KONTROLA DODATNIA	8 tygodni w temperaturze 2/8°C

6. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

TYLKO DO DIAGNOSTYKI IN VITRO.

Uwaga:

Ten zestaw zawiera materiały pochodzenia ludzkiego, które zostały przetestowane i uznane za ujemne w zatwierdzonych przez FDA testach zarówno dla HbsAg, jak i przeciwciał anty-HIV-1, anty-HIV-2 i anty-HCV. Ponieważ żaden test diagnostyczny nie może dać całkowitej gwarancji braku czynników zakaźnych, każdy materiał pochodzenia ludzkiego należy uznać za potencjalnie zakażony. Ze wszystkimi odczynnikami i próbkami należy obchodzić się zgodnie z zasadami bezpieczeństwa przyjętymi zwykle w laboratorium.

Usuwanie pozostałości: zużyte próbki surowicy, kalibratory i paski należy traktować jak zakażone pozostałości, a następnie usunąć zgodnie z obowiązującymi przepisami.

Ostrzeżenia dotyczące bezpieczeństwa osobistego

1. Nie należy pipetować ustami. Podczas pracy z próbkami należy używać jednorazowych rękawic i ochrony oczu. Po włożeniu wyrobu do aparatu CHORUS/CHORUS TRIO należy dokładnie umyć ręce.
2. Poniższe odczynniki zawierają niskie stężenia substancji szkodliwych lub drażniących:
 - a) Koniugat zawiera fenol.
 - b) Substrat jest kwaśny.
 W przypadku kontaktu odczynnika ze skórą lub oczami należy dokładnie przemyć wodą.
3. Zneutralizowane kwasy i inne odpady płynne należy zdezynfekować przez dodanie podchlorynu sodu w ilości wystarczającej do uzyskania końcowego stężenia co najmniej 1%. Narażenie na działanie 1% podchlorynu sodu przez 30 minut jest zwykle wystarczające do zapewnienia skutecznej dezynfekcji.
4. Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją pracy wyczyścić, np. 1% podchlorynem sodu. W przypadku obecności kwasu, podchloryn sodu nie może być stosowany do czasu osuszenia obszaru. Wszystkie materiały użyte do usuwania przypadkowych wycieków, w tym rękawice, muszą być wyrzucone jako odpady potencjalnie zakażne. Nie należy poddawać autoklawowaniu materiałów zawierających podchloryn sodu.

Ostrzeżenia analityczne

Przed użyciem doprowadzić wyroby do temperatury pokojowej (18-30°C) i użyć w ciągu 60 minut.

1. **Wyrzucić urządzenia z substratem (studzienka 4) zabarwionym na niebiesko.**
2. Podczas dodawania próbki do studzienki należy sprawdzić, czy jest ona idealnie rozprowadzona na dnie.
3. Sprawdzić rzeczywistą obecność odczynników w wyrobie oraz stan samego wyrobu, nie używać wyrobów, które przy oględzinach wykazują brak jakiegoś odczynnika.
4. Wyroby muszą być używane w połączeniu z aparatem Chorus/Chorus TRIO, ściśle przestrzegając instrukcji obsługi oraz Instrukcji obsługi aparatu.
5. Sprawdzić, czy aparat Chorus/Chorus TRIO jest ustawiony prawidłowo (patrz Instrukcja obsługi Chorus).
6. Nie należy zmieniać kodu kreskowego na uchwycie wyrobu, aby umożliwić jego prawidłowy odczyt przez aparat.
7. Wadliwe kody kreskowe mogą być ręcznie wprowadzone do aparatu.
8. Podczas przechowywania i użytkowania nie należy narażać wyrobów na działanie silnego światła lub oparów podchlorynu.
9. Stosowanie próbek silnie zhemolizowanych lub próbek z zanieczyszczeniem mikrobiologicznym może być źródłem błędów.
10. Przed włożeniem wyrobu do aparatu Chorus/Chorus TRIO należy się upewnić, że studzienka reakcyjna nie zawiera żadnych ciał obcych.
11. Odpipetować badaną surowicę (50 µl) do studzienki 1 wyrobu (patrz rysunek).
12. Nie należy używać wyrobu po upływie terminu ważności.

7. RODZAJ PRÓBK I JEJ PRZECHOWYWANIE

Próbka jest surowicą uzyskaną z krwi pobranej przez zwykłe nakłucie żyły i traktowaną zgodnie z wymaganiami standardowych procedur laboratoryjnych. Świeża surowica może być przechowywana przez 4 dni w temperaturze 2/8°C; w przypadku dłuższego okresu przechowywania należy ją zamrozić w temperaturze -20°C. Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek. Probka może być poddana maksymalnie 3 rozmrożeniom. Po rozmrożeniu, przed dozowaniem dokładnie wstrząsnąć. Na jakość próbki może mieć poważny wpływ zanieczyszczenie mikrobiologiczne, które może prowadzić do błędnych wyników.

Nie należy używać próbek silnie lipemicznych, ikteryicznych, hemolizowanych lub zanieczyszczonych.

Badanie nie ma zastosowania do ludzkiego osocza.

8. PROCEDURA

1. Otworzyć kopertę (strona zawierająca zamknięcie zaciskowe), wziąć wyroby potrzebne do wykonania badań, a pozostałe zachować, zamykając ponownie kopertę po wypuszczeniu powietrza.
2. Wzrokowo sprawdzić stan wyrobu zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale 6 Ostrzeżenia analityczne, punkty 1 i 8.
3. Wprowadzić 50 µl nierozcieńczonej surowicy do analizy do studzienki nr 1 każdego wyrobu; przy każdej zmianie partii użyć urządzenia kalibrującego.
4. Umieścić wyrób na aparacie Chorus/Chorus TRIO. Przeprowadzić kalibrację (jeśli jest wymagana) i test zgodnie z Instrukcją obsługi aparatu.

9. WALIDACJA BADANIA

Za pomocą surowicy kontrolnej sprawdzić poprawność uzyskanego wyniku, przetwarzając go zgodnie z instrukcją obsługi aparatu. Jeśli aparat wskaże, że wartość surowicy kontrolnej znajduje się poza dopuszczalnym zakresem, należy ponownie przeprowadzić kalibrację. Poprzednie wyniki zostaną skorygowane automatycznie.

Jeśli wynik surowicy kontrolnej nadal znajduje się poza dopuszczalnym zakresem, należy skontaktować się z Scientific Support.

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

10. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Aparat Chorus/Chorus TRIO zapewnia półilościowy wynik w AU/ml, za pomocą krzywej (zależnej od partii) zapisanej w aparacie.

Stopień odporności badanej surowicy można interpretować w następujący sposób:

ODPORNY: gdy stężenie IgG w próbce wynosi >18 AU/ml,

NIEODPORNY: jeśli stężenie wynosi < 12 AU/ml,

WĄTPLIWY/NIEJEDNOZNACZNY: gdy stężenie jest w zakresie 12-18 AU/ml.

Miano	Interpretacja wyników		Wynik CHORUS
> 40 AU/ml	Miano wysokie	Miano zgodne z trwającym lub niedawno przeżytym zakażeniem <i>M.pneumoniae</i>	P
≤ 40 AU/ml >18 AU/ml	Miano umiarkowane	Interpretacja może być wykonana dopiero po kolejnym pobraniu próbki 8-15 dni później.	P
≤ 18 AU/ml ≥ 12 AU/ml	Miano niskie		D/E
< 12 AU/ml	Miano nieistotne		N

Aparat sygnalizuje $>$, gdy AU/ml jest większe niż 100 AU/ml; w tym przypadku należy rozcieńczyć próbkę za pomocą Sample Diluent/Negative Control **ODN** 83607 (np. 1:3) i powtórzyć badanie. Wynik należy pomnożyć przez zastosowane rozcieńczenie.

W przypadku wątpliwego/niejednoznacznego wyniku badanie należy powtórzyć. Jeśli wynik pozostaje wątpliwym/niejednoznacznym, należy powtórzyć pobieranie próbek.

11. OGRANICZENIA PROCEDURY

Wynik ujemny nie wyklucza zakażenia *Mycoplasma*: w przypadku podejrzenia klinicznego należy powtórzyć badanie 15 dni później.

Surowice pobrane w ostrej fazie zakażenia mogą być dodatnie tylko na obecność przeciwciał klasy IgM. Dlatego zaleca się również określenie poziomu IgM przy użyciu zestawu *Mycoplasma* IgM (odn. 81035). Ewentualnie druga próbka pobrana 8-14 dni później będzie analizowana pod kątem ewentualnego wzrostu IgG.

Wynik badania musi być jednak oceniany łącznie z danymi z wywiadu z pacjentem i/lub innymi badaniami diagnostycznymi.

12. SWOISTOŚĆ ANALITYCZNA

Obecność w próbce potencjalnych czynników zakłócających, takich jak PCR, Bilirubina, Czynniki Reumatoidalne, Hemoliza i Triglicerydy, nie wpływa na wynik badania.

13. CZUŁOŚĆ I SWOISTOŚĆ DIAGNOSTYCZNA

Przeanalizowano 61 próbek, z których 42 były dodatnie, a 19 ujemnych przy użyciu zestawu Chorus w porównaniu z innym komercyjnie dostępnym zestawem. Niezgodne wyniki analizowano za pomocą Western Blot uznanym za wzorzec. Wątpliwe próbki uznano za dodatnie. Zestaw Diesse dał 2 fałszywie dodatnie wyniki.

Wyniki zostały podsumowane w poniższej tabeli:

		Oдноśnik		
		+	-	Razem
Diesse	+	40	2	42

	-	0	19	19
	Razem	40	21	61

Czułość 100.0 % CI_{95%}: 91,2 do 100,0
 Swoistość 90.5 % CI_{95%}: 71,1 do 97,3

14. PRECYZJA

Tabela 1. Precyzja w ramach sesji

	Liczba powtórzeń	Średnia AU/ml	D.S.	CV%
Nr partii 475	9	61.0	2.80	4.6
Nr partii 459	9	45.3	4.90	10.8
Nr partii 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabela 2. Precyzja między sesjami i między partiami

Próbka	Średnia AU/ml			Średnia	D. S.	CV%
	Partia 475	Partia 459	Partia 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0.00	0.0
MYG 2	15.3	14.7	14	14.7	0.65	4.4
MYG 3	41.7	39.6	40.7	40.7	1.05	2.6
MYG 4	65.7	78.3	73.7	72.6	6.38	8.8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0.00	0.0

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.



NAVODILA ZA UPORABO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

REF 81034

(SL)

1. UPORABA

SEMIKVANTITATIVNO DOLOČANJE PROTITELES IgG PROTI MYCOPLASMA V ČLOVEŠKEM SERUMU S PRIPOMOČKOM ZA ENKRATNO UPORABO NA APARATIH CHORUS IN CHORUS TRIO

2. UVOD

Mycoplasma pneumoniae je najpogostejši povzročitelj pljučnice, pridobljene v skupnosti, zlasti v starostni skupini od 5 do 30 let. Povzroča lahko epidemije, ki se razvijajo počasi, saj je inkubacijska doba od 10 do 14 dni, okužba pa se širi s tesnimi stiki ali izoliranimi skupine (šole, vojašnice, gospodinjstva). Mikoplazemsko pljučnico imenujemo tudi primarna atipična pljučnica ali Eatonov agens.

M. pneumoniae napada in uničuje dlakave epitelijske celice sluznice dihalnih poti. Mikroskopsko povzroča investicijsko pljučnico, bronhitis in bronhiolitis.

V primeru pljučnice so zaradi ponavljanja simptomov pri različnih povzročiteljih za diagnozo akutne okužbe potrebna dodatna diagnostična sredstva, kot so serološki testi.

Imunski odziv po okužbi z *Mycoplasma pneumoniae* je povezan s samo vrsto okužbe: protitelesa razreda IgM so pogostejše prisotna v primerih primarne okužbe, kar dokazuje njihova prisotnost pri mlajših bolnikih. Pri starejših bolnikih in z večjo verjetnostjo ponovne okužbe je IgM nizek ali ga ni mogoče odkriti; v nasprotju s tem je IgA marker za večjo občutljivost pri potekajočih okužbah, ponovnih okužbah ali nedavnih okužbah.

Specifična protitelesa razreda A se pojavijo zgodaj, ob začetku bolezni, in v prvih štirih tednih dosežejo visoke titre, nato pa naglo upadejo pred IgG, kar omogoča diagnozo akutne okužbe že z enim samim vzorcem krvi. IgG se pojavi za IgM in IgA, v povprečju pa doseže vrh v petem tednu. Visok titer, ki ga spremlja znatno povečanje med dvema odvzemoma v razmaku približno dveh tednov, potrjuje prisotnost tekoče okužbe.

3. NAČELO METODE

Test temelji na načelu ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Ultrazvočno obdelani in raztopljeni antigen mikoplazme se veže na trdno fazo. Z inkubacijo z razredčenim človeškim serumom se specifični imunoglobulini vežejo na antigen. Po spiranju, da se odstranijo beljakovine, ki niso reagirale, se izvede inkubacija s konjugatom, sestavljenim iz monoklonskih protiteles proti človeškemu IgG, označenih s hrenovo peroksidazo. Odstrani se nevezani konjugat in se doda substrat za peroksidazo.

Modra barva, ki se razvije, je sorazmerna s koncentracijo specifičnih protiteles, prisotnih v testnem serumu.

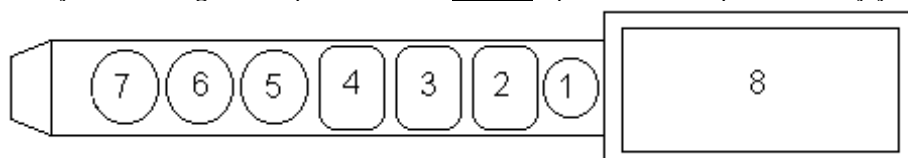
Pripomočki za enkratno uporabo vsebujejo vse reagente za izvedbo testa, ko se uporabljajo na instrumentih Chorus / Chorus TRIO. Rezultat je izražen v AU/ml, izračunanih glede na notranjo standardno krivuljo.

4. SESTAVA KOMPLETA IN PRIPRAVA REAGENTOV

Komplet zadostuje za 36 določitev.

DD PRIPOMOČKI 6 paketov po 6 pripomočkov

Uporaba: **ovojnico uravnajte na sobno temperaturo**, odprite ovojnico, vzemite potrebne pripomočke; druge položite v ovojnico s silikagelom, izpusite zrak in **zaprite** s pritiskom na zapiralo. Shranjujte pri 2/8 °C.



Opis:

Položaj 8: Prostor, ki je na voljo za nalepko s črtno kodo

Položaj 7: prazen

Položaj 6: JAMICA ZA MIKROPLOŠČE, senzibilizirana z antigenom *Mycoplasma pneumoniae*.

Položaj 5: JAMICA ZA MIKROPLOŠČE ni senzibilizirana.

Položaj 4: SUBSTRAT TMB

Vsebina: Tetrametilbenzidin 0,26 mg/ml in H₂O₂ 0,01 %, stabilizirana v citratnem pufru 0,05 mol/L (pH 3,8)

Položaj 3: RAZREDČILO ZA VZORCE

Vsebina: Beljakovinska raztopina, ki vsebuje fenol 0,05 %, bronidoks 0,02 % in indikator za ugotavljanje prisotnosti seruma.

Položaj 2: KONJUGAT

Vsebina: monoklonska protitelesa proti človeškemu IgG, označena s peroksidazo, v raztopini fosfatnega pufra, ki vsebuje 0,05 % fenola in 0,02 % bronidoksa.

Položaj 1: PRAZNA JAMICA kamor mora uporabnik dozirati nerazredčen serum.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,425 ml

Vsebina: Razredčen človeški serum z znano koncentracijo protiteles s proklinom in gentamicinom, tekoč, pripravljen za uporabo.

CONTROL + POZITIVNA KONTROLA 1 x 0,425 ml

Vsebina: Razredčen človeški serum z znano koncentracijo protiteles s proklinom in gentamicinom, tekoč, pripravljen za uporabo.

DRUGI ZAHTEVANI MATERIAL, KI SE NE DOBAVI.

- PUFER ZA SPIRANJE **REF** 83606
- ČISTILNA RAZTOPINA 2000 **REF** 83609
- RAZTOPINA ZA RAZKUŽEVANJE **REF** 83604-83608
- CHORUS NEGATIVNA KONTROLA / RAZREDČILO ZA VZOREC **REF** 83607
- Destilirana ali deionizirana voda
- Običajna laboratorijska steklovina: cilindri, epruvete itd.
- Mikropipete za natančno odvzemanje volumnov od 50 do 200 µl
- Rokavice za enkratno uporabo
- 5-odstotna raztopina natrijevega hipoklorita
- Zabojniki za zbiranje potencialno okuženih materialov

5. NAČIN SHRANJEVANJA IN STABILNOST REAGENTOV

Reagente je treba shranjevati pri temperaturi 2/8°C. V primeru napačne temperature shranjevanja je treba kalibracijo ponoviti in preveriti pravilnost rezultata z uporabo kontrolnega seruma (glejte poglavje 9 validacija testa).

Datum izteka roka uporabnosti je natisnjen na vsaki sestavini in na zunanji nalepki embalaže.

Reagenti imajo po odprtju in / ali pripravi omejeno stabilnost:

PRIPOMOČKI	8 tednov pri 2/8 °C
KALIBRATOR	8 tednov pri 2/8 °C
POZITIVNA KONTROLA	8 tednov pri 2/8 °C

6. PREVIDNOSTNI UKREPI

SAMO ZA DIAGNOSTIČNO UPORABO IN VITRO.

Pozor:

Ta komplet vsebuje materiale človeškega izvora, ki so bili testirani in negativni v testih, ki jih je odobrila FDA, za iskanje HbsAg in protiteles anti-HIV-1, anti-HIV-2 in anti-HCV. Ker noben diagnostični test ne more zagotoviti popolne odsotnosti povzročiteljev infekcije, je treba vsak material človeškega izvora obravnavati kot potencialno okuženega. Z vsemi reagenti je treba ravnati v skladu z varnostnimi pravili, ki so običajno sprejeta v laboratoriju.

Odstranjevanje odpadkov: z uporabljenimi vzorci seruma, kalibratorji in trakovi je treba ravnati kot z okuženimi odpadki in jih torej odstraniti v skladu z veljavnimi predpisi.

Opozorila o osebni varnosti

1. Ne pipetirajte z usti. Pri ravnanju z vzorci uporabljajte rokavice za enkratno uporabo in zaščito za oči. Po vstavljanju pripomočkov v instrument CHORUS/CHORUS TRIO si dobro operite roke.
2. Naslednji reagenti vsebujejo nizke koncentracije škodljivih ali dražečih snovi:
 - a) Konjugat vsebuje fenol
 - b) Substrat je kisel

Če reagent pride v stik s kožo ali očmi, jih dobro sperite z vodo.

3. Nevtralizirane kisline in druge tekoče odpadke je treba razkužiti z dodajanjem natrijevega hipoklorita v zadostni količini, da se doseže vsaj 1 % končna koncentracija. Izpostavljenost 1-odstotnemu natrijevemu hipokloritu za 30 minut običajno zadostuje za zagotovitev učinkovitega razkuževanja.
4. Vsako razlitje potencialno okuženih materialov je treba takoj odstraniti z vpojnim papirjem, pred nadaljevanjem dela pa onesnaženo območje očistiti, npr. z 1 % natrijevim hipokloritom. Če je prisotna kislina, natrijevega hipoklorita ne smete uporabiti, dokler se območje ne posuši. Vse materiale, ki se uporabljajo za čiščenje naključnih razlitij, vključno z rokavicami, je treba zavreči kot potencialno okužene odpadke. Ne avtoklavirajte materialov, ki vsebujejo natrijev hipoklorit.

Analitična opozorila

Pred uporabo pripomočke segrejte na sobno temperaturo (18-30 °C) in jih uporabite v 60 minutah.

1. **Pripomočke z modro obarvanim substratom (jamica 4) zavržite.**
2. Pri dodajanju vzorca v jamico preverite, ali je vzorec popolnoma porazdeljen po dnu.
3. Preverite dejansko prisotnost reagentov v pripomočku in nepoškodovanost samega pripomočka, ne uporabljajte pripomočkov, pri katerih je pri vizualnem pregledu ugotovljeno pomanjkanje katerega od reagentov.
4. Pripomočke je treba uporabljati skupaj z instrumentom Chorus / Chorus TRIO, pri čemer je treba dosledno upoštevati navodila za uporabo in priročnik instrumenta
5. Preverite, ali je instrument Chorus / Chorus TRIO pravilno nastavljen (glejte Priročnik za uporabo Chorus).
6. Ne spreminjajte črtne kode na ročaju pripomočka, da jo bo instrument lahko pravilno prebral.
7. Poškodovane črtne kode lahko ročno vnesete v instrument.
8. Med skladiščenjem in uporabo pripomočkov ne izpostavljajte močni svetlobi ali hlapom hipoklorita.
9. Uporaba močno hemoliziranih vzorcev ali vzorcev z mikrobno onesnaženostjo je lahko vir napak.
10. Pred vstavljanjem pripomočka v instrument Chorus/Chorus TRIO se prepričajte, da v reakcijski jamici ni tujkov.
11. V jamico 1 pripomočka s pipeto vnesite testni serum (50 µl) (glejte sliko).
12. Pripomočka ne uporabljajte po izteku roka uporabnosti

7. VRSTA VZORCA IN SHRANJEVANJE

Vzorec je serum, pridobljen iz krvi, odvzete z običajno vensko punkcijo, in obdelan v skladu s standardnimi laboratorijskimi postopki. Sveži serum lahko hranite 4 dni pri temperaturi 2/8 °C; za daljše shranjevanje ga zamrznete na -20 °C. Za shranjevanje vzorcev se izogibajte uporabi samoodmrzovalnih zamrzovalnikov. Vzorec se lahko odtaja največ trikrat. Po odmrznitvi ga pred odmerjanjem skrbno pretresite. Na kakovost vzorca lahko resno vpliva mikrobna kontaminacija, ki lahko privede do napačnih rezultatov.

Močno lipemičnih, ikteričnih, hemolizirani ali onesnaženih vzorcev ni mogoče uporabiti.

Test se ne uporablja za človeško plazmo.

8. POSTOPEK

1. Odprite ovojnico (stran, na kateri je pritisni pečat), vzemite toliko pripomočkov, kolikor jih potrebujete za izvedbo preiskav, ostale pa shranite tako, da ovojnico po izpustu zraka ponovno zaprete.
2. Vizualno preverite stanje pripomočka v skladu z navodili v poglavju 6 "Analitična opozorila", točki 1 in 8.
3. V jamico št. 1 vsakega pripomočka odmerite 50 µl nerazredčenega seruma za analizo; pri vsaki menjavi serije uporabite kalibrator.
4. Vstavite pripomoček v instrument Chorus/Chorus TRIO. Izvedite umerjanje (če je potrebno) in preskus v skladu s priročnikom z navodili za uporabo instrumenta.

9. VALIDACIJA TESTA

S kontrolnim serumom preverite pravilnost dobljenega rezultata in ga obdelajte, kot je navedeno v navodilih za uporabo instrumenta. Če instrument pokaže, da je vrednost kontrolnega seruma izven sprejemljivega obsega, je treba kalibracijo ponoviti. Prejšnji rezultati se avtomatsko popravijo.

Če je rezultat kontrolnega seruma še naprej izven sprejemljivega območja, se obrnite na znanstveno podporo.

Tel: 0039 0577 319554
 Faks: 0039 0577 366605
 e- scientificsupport@diesse.it
 pošta:

10. RAZLAGA REZULTATOV

Instrument Chorus/Chorus TRIO zagotavlja semikvantitativni rezultat v AU/ml na podlagi krivulje (odvisne od serije), shranjene v instrumentu.

Stopnja imunosti serumu v obdelavi se lahko razlaga kot sledi:

IMUN: ko je koncentracija IgG v vzorcu >18 AU/ml

NI IMUN: če je koncentracija < 12 AU/ml

DVOMLJIV / SUMLJIV: kadar je koncentracija v razponu 12-18 AU/ml

Titer	Razlaga rezultatov		Rezultat CHORUS
> 40 AU/ml	Visok titer	Titer, ki je združljiv s trenutno ali nedavno okužbo z <i>M.pneumoniae</i>	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/ml	Zmeren titer	Razlaga je mogoča šele po ponovnem vzorčenju 8-15 dni pozneje.	P
≤ 18 AU/ml ≥12 AU/ml	Nizek titer		D/E
< 12 AU/ml	Zanemarljiv titer		N

Instrument signalizira >, če je AU/ml več kot 100 AU/ml; v tem primeru vzorec razredčite z razredčilom za vzorec / negativno kontrolo REF 83607 (npr. 1:3) in ponovite test. Rezultat je treba pomnožiti z uporabljenim razredčenjem. V primeru dvomljivega / sumljivega rezultata test ponovite. Če je rezultat še vedno dvomljiv / sumljiv, odzvem ponovite.

11. OMEJITVE POSTOPKA

Negativen rezultat ne izključuje okužbe z mikoplazmo: v primeru kliničnega suma ponovite test čez 15 dni.

Serumi, odvzeti v akutni fazi okužbe, so lahko pozitivni le na protitelesa razreda IgM. Zato je priporočljivo določiti tudi raven IgM z uporabo kompleta Mycoplasma IgM (ref 81035). Lahko pa se pri drugem vzorcu, odvzetem 8-14 dni pozneje, se analizira morebitno povečanje koncentracije IgG.

Vseeno pa je treba rezultat testa oceniti skupaj s podatki iz pacientove anamneze in/ali drugih diagnostičnih preiskav.

12. ANALITIČNA SPECIFIČNOST

Prisotnost morebitnih interferenčnih dejavnikov, kot so PCR, bilirubin, revmatoidni faktor, hemoliza in trigliceridi, v vzorcu ne vpliva na rezultat testa.

13. DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST IN SPECIFIČNOST

Analiziranih je bilo 61 vzorcev, od katerih je bilo 42 pozitivnih in 19 negativnih s kompletom Chorus v primerjavi z drugim kompletom, razpoložljivim na trgu. Neusklajeni rezultati so bili referenčno analizirani z Western Blot. Dvumljivi vzorci so se šteli za pozitivne. Komplet Diesse je dal 2 lažno pozitivna rezultata.

Rezultati so povzeti v spodnji tabeli:

		Referenca		
		+	-	Skupaj
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Skupaj	40	21	61

Občutljivost 100,0 % CI₉₅ %: 91,2 do 100,0

Specifičnost 90,5 % CI₉₅ %: 71,1 do 97,3

14. NATANČNOST

Tabela 1. Natančnost v okviru seje

	Število ponovitev	Povprečno AU/ml	D.S.	CV %
Ser. št. 475	9	61,0	2,80	4,6

Ser. št. 459	9	45,3	4,90	10,8
Ser. št. 504	9	37,4	4,84	12,9

Tabela 2. Natančnost med sejami in serijami

Vzorec	Povprečno AU/ml			Mediji	D. S.	CV %
	Serijs 475	Serijs 459	Serijs 504			
MYG 1	<10	<10	<10	<10	0,00	0,0
MYG 2	15,3	14,7	14	14,7	0,65	4,4
MYG 3	41,7	39,6	40,7	40,7	1,05	2,6
MYG 4	65,7	78,3	73,7	72,6	6,38	8,8
MYG 5	>100	>100	>100	>100	0,00	0,0

15. BIBLIOGRAFIJA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171
5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Zv.369, str.1295-1299, December 1988.

	EN ES IT CS HR BG LT SL	Date of manufacture Fecha de fabricación Data di fabbricazione Datum výroby Datum proizvodnje Дата на производство Pagaminimo data Datum izdelave	FR EL PT RO DE ET PL	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico Data fabricatiei Herstellungsdatum Valmistamise kuupäev Data produkcji
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Use By Fecha de caducidad Utilizzare entro Použitelné do Upotrijebiti do Използване в рамките на Sunaudoti per Uporabiti do	FR EL PT RO DE ET PL	Utiliser jusqu'à Ημερομηνία λήξης Prazo de validade A se folosi pana la Verwendbar bis Kasutage siseselt Data minimalnej trwałości
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Caution, consult accompanying documents Atención, ver instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Pozor, čtěte přiložené dokumenty Pozor, vidi upute za uporabu Внимание, вижте инструкциите за употреба Dėmesio, žr. naudojimo instrukciją Pozor, glejite navodila za uporabo	FR EL PT RO DE ET PL	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Atentie, consultați documentele insotitoare Achtung, Begleitdokumente beachten Tähelepanu, vt kasutusjuhendit Uwaga, patrz instrukcja obsługi
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Manufacturer Fabricante Fabbricante Výrobce Proizvođač Производител Gamintojas Proizvajalec	FR EL PT RO DE ET PL	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Productator Hersteller Tootja Producent
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Obsah stačí na <n> testů Sadržaj dovoljan za „tot.“ Testova Достатъчно съдържание за "n" есета Turinio pakanka „n“ tyrimų Dovolj vsebine za "n" poskusov	FR EL PT RO DE ET PL	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios Continut sufficient pt <n> teste Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen Piisav sisu "n" essee jaoks Zawiera wystarczającą ilość do „n” próbek
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Temperature limitation Límite de temperatura Limiti di temperatura Teplotní omezení Temperaturne granice Температурни граници Temperatūros ribos Temperaturne omejitve	FR EL PT RO DE ET PL	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Limita da temperatura Temperaturbegrenzung Temperatuuri piirangud Wartości graniczne temperatury
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Consult Instructions for Use Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Čtěte návod k použití Pogledati upute za uporabu Вижте инструкциите за употреба Žr. naudojimo instrukcijas Glejite navodila za uporabo	FR EL PT RO DE ET PL	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Pentru utilizare consultați instrucțiunile Gebrauchsanweisung beachten Vt kasutusjuhendit Patrz instrukcja obsługi
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Catalogue number Número de catálogo Numero di catalogo Katalogové číslo Kataloški broj Каталожен номер Katalogo numeris Kataloška številka	FR EL PT RO DE ET PL	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo Numar de catalog Bestellnummer Kataloogi number Numer katalogowy

IVD	EN ES IT CS HR BG LT SL	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Lékařské vybavení pro diagnostiku <i>in vitro</i> Medicinski proizvod za dijagnostiku <i>in vitro</i> Диагностично медицинско изделие <i>in vitro</i> In vitro diagnostikos medicinos priemonė Diagnostični medicinski pripomoček <i>in vitro</i>	FR EL PT RO DE ET PL	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> Dizpositiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i> <i>In-Vitro</i> -Diagnostikum In vitro diagnostiline meditsiiniseade Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
LOT	EN ES IT CS HR BG LT SL	Batch code Código de lote Codice del lotto Kód šarže Šifra serije Код на партидата Partijos kodas Koda serije	FR EL PT RO DE ET PL	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote Lot Chargenbezeichnung Partii kood Kod partii
CE	IT EN CS DE HR BG LT SL	Marcatura CE di conformità CE marking of conformity Oznakowanie zgodności CE CE-Konformität Skenneichnung CE oznaka skladnosti Маркировка за съответствие CE EB atitikties ženkla Oznaka o skladnosti CE	ES EL FR PT RO ET PL	Marcado CE de conformidad Σημανση συμμορφωσης CE Marquage de conformité CE Marcação CE de conformidade Marcajul de conformitate CE CE-vastavusmārgis Oznaczenie zgodności CE