

CHORUS

**MYCOPLASMA
PNEUMONIAE IgG**



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggion(SI)

REF 81034



Italy



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. DESTINAZIONE D'USO

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) è un kit immunologico per la determinazione semiquantitativa automatizzata degli anticorpi IgG contro Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae è l'agente eziologico più comune che causa la polmonite acquisita in ambienti comunitari. Le IgG compaiono dopo le IgM e le IgA e generalmente raggiungono il picco durante la 5^a settimana, pertanto il kit viene utilizzato come ausilio nella diagnosi dell'infezione da polmonite.

Il test, eseguito su siero umano mediante un dispositivo monouso applicato agli strumenti CHORUS e CHORUS TRIO, deve essere utilizzato esclusivamente da personale professionale di laboratorio.

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^a 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, sonicated 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. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova.
3. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile sul sito DIESSE: www.diesse.it).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere

decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata.

Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.

- Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
- 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.
- I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale dello strumento.

L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito DIESSE

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

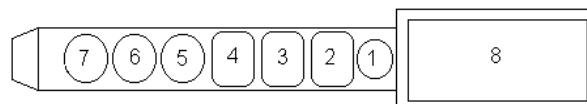
- Controllare che lo strumento Chorus sia impostato correttamente (vedi Manuale d'uso Chorus).
- Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
- Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
- Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
- Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
- Non utilizzare campioni emolizzati, lipemici, itterici con una concentrazione di interferenti superiore a quella testata (secondo le indicazioni riportate nel capitolo "Specificità analitica").
- Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
- Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: vuota

Posizione 6: Sensibilizzato con antigene di *Mycoplasma pneumoniae*: concentrazione massima 2.51 µg/ml

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 (concentrazione massima 1.5 µg/ml) 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.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.425 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.

L'affidabilità delle misurazioni del Calibratore e del Controllo positivo è garantita dalla catena di tracciabilità descritta di seguito.

Il Calibratore ed il Controllo positivo sono prodotti a partire da un campione umano a concentrazione nota di antigeni diluiti per raggiungere una specifica concentrazione, il cui range è lotto-dipendente e viene assegnato durante la fase di rilascio del controllo qualità utilizzando una serie di calibratori secondari ("Working calibrator").

I "Working calibrator" vengono preparati e caratterizzati in accordo con un panel di sieri umani di riferimento, con differenti livelli di antigeni.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO.

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Strumento Chorus/Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl

- Guanti mono-uso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di 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

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

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

Secondo la linea guida CLSI H18-A3 i campioni di siero da analizzare devono essere coagulati prima della centrifugazione; la coagulazione spontanea e completa avviene normalmente entro 30-60 minuti a 22°C-25°C. Si raccomanda di separare fisicamente il siero, mediante centrifugazione, dal contatto con le cellule il più presto possibile con un limite di tempo massimo di 2 ore dal momento della raccolta.

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a temperature ≤ -20°C per un periodo non superiore a 47 mesi.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinatori 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 ul 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

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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:

POSITIVO: quando il risultato è >18 AU/mL

NEGATIVO: quando il risultato è < 12 AU/mL

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 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 DEL TEST

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. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 0-100.0 AU/ml.

Per campioni > 100.0 AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. SPECIFICITA' ANALITICA

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

14. STUDI DI COMPARAZIONE

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

Valore predittivo positivo (PPV): = 95,2 CI_{95%}: 89.9 – 100.0

Valore predittivo negativo (NPV): = 100,0 CI_{95%}: 100.0 – 100.0

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. SEGNALE DI INCIDENTE

Se si è verificato un incidente grave in relazione a questo dispositivo nel territorio di mercato dell'Unione Europea, si prega di segnalarlo senza indugio al produttore e all'autorità competente del proprio Stato membro.

18. SINTESI RELATIVA ALLA SICUREZZA E ALLE PRESTAZIONI

Questo documento, che sarà reso disponibile sul database di EUDAMED (quando questo sarà completamente implementato e funzionante), fa parte della Documentazione Tecnica e può essere richiesto al produttore.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

For In Vitro Diagnostic Use Only

1. INTENDED PURPOSE

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) is an immunoassay kit for the automated semi-quantitative determination of IgG antibodies against Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae is the most common etiological agent causing pneumonia acquired in community environments. The IgG appear after the IgM and IgA and they generally reach the peak level during the 5° week, therefore the kit is used as an aid in the diagnosis of pneumonia infection.

The test, performed in human serum using a disposable device applied to the CHORUS and CHORUS TRIO instruments, must be used by professional laboratory personnel only.

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 evidence 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 5° 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. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS instruments.
4. Refer to the Safety Data Sheet (available on DIESSE website: www.diesse.it) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1.0%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% 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) for at least 30 minutes before the use; use within 60 min.

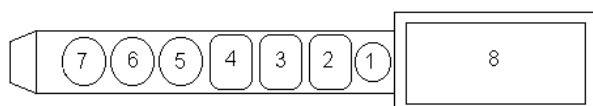
1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent.
4. The devices are for use with the Chorus instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
The Use of the kit is only possible with an updated version of the software. Make sure that the software installed in the instrument matches or has a Release (date) above the one shown in the table published on the Diesse website
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Check that the Chorus 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 and do not use devices with defective labels.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapours during storage and use.
10. Do not use hemolyzed, lipemic or , icteric samples with a concentration of interferents higher than that tested (according to the indications given in the "Analytical specificity" chapter).
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer REF 83606.**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

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: Coated with Mycoplasma pneumoniae antigen: maximum concentration 2.51 µg/ml

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 (maximum concentration 1.5 µg/m) 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**.

Confidence in measurements of Calibrator and Positive control is established with traceability to measurement standards as follows.

Calibrator and Positive control are produced diluting a known concentration of human antigens in its own stabilizing medium. The relative exact range concentration is lot-dependent and is assigned during the releasing Quality control phase using a series of Working Calibrators.

The Working Calibrators are prepared and characterized, checking the consensus with a reference sera panel with different antigens levels.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be

repeated and the run validated using the control serum (see 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

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

The sample is composed of serum collected from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. According to the guideline CLSI H18-A3 Serum specimens to be tested should be clotted before centrifugation; spontaneous and complete clotting normally occurs within 30 to 60 minutes at 22°C-25°C.

It is recommended that serum be physically separated, by centrifugation, from contact with cells as soon as possible with a maximum time limit of 2 hours from the time of collection.

The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at temperature $\leq -20^{\circ}\text{C}$, a least 47 months, 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
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 M.pneumoniae 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. CALIBRATION RANGE

Calibration range 0-100.0 AU/ml.

For samples > 100.0 AU/ml repeat the test pre-diluting the sample with Negative Control/Sample Diluent (PF83607 – not supplied with the kit).

13. 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.

14. METHOD COMPARISON

61 samples were tested, 42 of which were positive and 19 negatives 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

Positive Predicted Value (PPV) = 95.2 CI_{95%}: 89.9 – 100.0

Negative Predicted Value (NPV) = 100.0 CI_{95%}: 100.0 – 100.0

15. PRECISION AND REPEATABILITY

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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. INCIDENT REPORTING

If any serious incident in relation to this device has occurred in the European Union market territory, please report without delay to the manufacturer and competent authority of your Member State.

18. SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE

This document, which will be made available on the EUDAMED database (when this is fully implemented and functioning), is part of the Technical Documentation and can be requested from the manufacturer.



GEBRAUCHSANWEISUNG

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

**Nur zur Verwendung in der *In-vitro*-
Diagnostik**

1. VERWENDUNGSZWECK

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgG (REF 81034) ist ein immunologisches Testkit für die semiquantitative, automatisierte Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae ist der häufigste ätiologische Erreger einer in der Gemeinschaft erworbenen Lungenentzündung. IgG tritt nach IgM und IgA auf und erreicht in der Regel in der 5. Woche seinen Höhepunkt, so dass das Kit als Hilfsmittel bei der Diagnose einer Lungenentzündung verwendet wird.

Der Test, der in Humanserum mit einem Einweggerät durchgeführt wird, das in die Instrumente CHORUS und CHORUS TRIO eingelegt wird, darf nur von professionellem Laborpersonal durchgeführt werden.

2. EINFÜHRUNG

Mycoplasma Pneumoniae ist der häufigste ätiologische Erreger einer in der Gemeinschaft erworbenen Lungenentzündung, insbesondere in der Altersgruppe von 5 bis 30 Jahren; er kann für Epidemien verantwortlich sein, die sich langsam entwickeln, da die Inkubationszeit zwischen 10 und 14 Tagen liegt und die Ansteckung durch enge Kontakte oder getrennte Gruppen (Schulen, Kasernen, Haushalte) erfolgt. Die Mykoplasmen-Pneumonie wird auch als primäre atypische Lungenentzündung oder Eatons Erreger-Pneumonie bezeichnet.

M. Pneumoniae befällt und zerstört die Flimmerepithelzellen der Schleimhäute der Atemwege. Mikroskopisch gesehen verursacht er interstitielle Lungenentzündung, Bronchitis und Bronchiolitis.

Bei Lungenentzündungen sind angesichts des Wiederauftretens von Symptomen bei verschiedenen ätiologischen Erregern zusätzliche diagnostische Mittel wie serologische Tests für die Diagnose einer akuten Infektion erforderlich.

Die Immunreaktion nach einer Infektion mit Mycoplasma Pneumoniae scheint mit der Art der Infektion selbst zusammenzuhängen: Antikörper der Klasse IgM sind häufiger bei Primärinfektionen vorhanden, was durch ihr Auftreten bei jüngeren Patienten belegt wird. Bei älteren Patienten und solchen, bei denen eine erneute Infektion wahrscheinlicher ist, ist IgM niedrig oder nicht nachweisbar; im Gegensatz dazu ist IgA der Marker mit höherer Empfindlichkeit bei laufenden Infektionen, erneuten Infektionen oder kürzlichen Infektionen.

Spezifische Antikörper der Klasse A treten bereits zu Beginn der Krankheit auf und erreichen in den ersten vier Wochen hohe Titer, die dann abrupt vor IgG abfallen, so dass die Diagnose einer akuten Infektion sogar mit einer einzigen Blutprobe gestellt werden kann. IgG tritt nach IgM und IgA auf und erreicht im Durchschnitt in 5. Woche seinen Höhepunkt. Ein hoher Titer, der zwischen zwei Probenahmen im Abstand von etwa zwei Wochen deutlich ansteigt, bestätigt das Vorliegen einer laufenden Infektion.

3. PRINZIP DER METHODE

Der Test basiert auf dem ELISA-Prinzip (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Das beschaltete und solubilisierete Mykoplasma-Antigen wird an die feste Phase gebunden. Durch Inkubation mit verdünntem Humanserum binden spezifische Immunglobuline an das Antigen. Nach dem Waschen zur Entfernung nicht umgesetzter Proteine erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat, das aus monoklonalen humanen Antikörpern der Klasse IgG besteht, die mit Meerrettichperoxidase konjugiert sind. Das ungebundene Konjugat wird entfernt und das Substrat für die Peroxidase hinzugefügt.

Die blaue Farbe, die sich entwickelt, ist proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.

Die Einweggeräte enthalten alle Reagenzien zur Durchführung des Tests bei Anbringen an den Instrumenten Chorus/Chorus TRIO. Das Ergebnis wird in AU/ml ausgedrückt, berechnet mit Bezug auf eine interne Standardkurve.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

NUR FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK GEEIGNET.

Dieses Kit enthält Materialien menschlichen Ursprungs, die sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1-, Anti-HIV-2- und Anti-HCV-Antikörper getestet und für negativ befunden wurden. Da kein diagnostischer Test eine vollständige Garantie für das Nichtvorhandensein von Infektionserregern bieten kann, muss jedes Material menschlichen Ursprungs als potenziell infiziert angesehen werden. Alle Reagenzien und Proben müssen gemäß den im Labor üblichen Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung von Rückständen: Serumproben, Kalibratoren und benutzte Streifen sind als infizierte Rückstände zu behandeln und gemäß den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Warnungen zur persönlichen Sicherheit

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Verwenden Sie beim Umgang mit den Proben und während des Tests Einweghandschuhe und einen Augenschutz.
3. Waschen Sie sich nach dem Test gründlich die Hände.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der im Kit enthaltenen Reagenzien verweisen wir auf das Sicherheitsdatenblatt (verfügbar auf der DIESSE-Website: www.diesse.it)

5. Neutralisierte Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit in ausreichender Menge desinfiziert werden, um eine Endkonzentration von mindestens 1 % zu erreichen. Eine 30-minütige Einwirkung von 1%igem Natriumhypochlorit sollte für eine wirksame Desinfektion ausreichen.
6. Verschüttetes, möglicherweise infiziertes Material muss sofort mit saugfähigem Papier entfernt werden, und der verunreinigte Bereich muss dekontaminiert werden, z. B. mit 1%igem Natriumhypochlorit, bevor die Arbeit fortgesetzt wird. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf Natriumhypochlorit erst verwendet werden, wenn der Bereich getrocknet ist. Alle Materialien, die zur Dekontaminierung von versehentlich verschütteten Stoffen verwendet werden, einschließlich Handschuhe, müssen als potenziell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Analytische Warnhinweise

Vor der Verwendung die zu verwendenden Geräte mindestens 30 Minuten lang auf Raumtemperatur (18-30 °C) bringen und innerhalb von 60 Minuten verwenden.

1. Geräte mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) verwerfen.

2. Wenn Sie die Probe in die Vertiefung geben, achten Sie darauf, dass sie sich perfekt auf dem Boden verteilt.
3. Überprüfen Sie das tatsächliche Vorhandensein der Reagenzien im Gerät und die Unversehrtheit des Geräts selbst. Verwenden Sie keine Geräte, die bei der Sichtprüfung einen Reagenzmangel aufweisen.
4. Die Geräte müssen in Verbindung mit dem Instrument Chorus verwendet werden, wobei die Gebrauchsanweisung und das Handbuch des Instruments genau zu beachten sind.

Die Verwendung des Kits ist nur mit einer aktualisierten Softwareversion möglich. Vergewissern Sie sich, dass die auf dem Instrument installierte Software mit der auf der Website Diesse veröffentlichten Tabelle übereinstimmt oder eine höhere Release (Rel.) hat

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

5. Prüfen Sie, ob das Instrument Chorus richtig eingestellt ist (siehe Chorus-Benutzerhandbuch).
6. Verändern Sie den Barcode auf dem Gerätegriff nicht, damit er vom Instrument korrekt gelesen werden kann.
7. Vermeiden Sie die Verwendung von selbstabtauenden Gefriergeräten für die Probenlagerung.
8. Defekte Barcodes können manuell in das Instrument eingegeben werden.
9. Setzen Sie die Geräte während der Lagerung und Verwendung keinem starken Licht oder Hypochlorit-Dämpfen aus.
10. Verwenden Sie keine hämolysierten, lipämischen oder ikterischen Proben mit einer höheren Konzentration an Störsubstanzen als im Test (gemäß den Angaben im Kapitel „Analytische Spezifität“).

11. Verwenden Sie das Gerät nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.

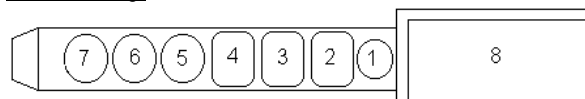
12. Vergewissern Sie sich, dass das Instrument über einen Anschluss an den Waschpuffer (Ref. 83606) verfügt.

5. ZUSAMMENSETZUNG DES KITS UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Das Kit ist ausreichend für 36 Bestimmungen.

DD GERÄTE 6 Packungen mit je 6 Geräten

Beschreibung:



Position 8: Verfügbarer Platz für Barcode-Etikett

Position 7: leer

Position 6: Sensibilisiert mit Mycoplasma Pneumoniae-Antigen: Höchstkonzentration 2,51 µg/ml

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG nicht sensibilisiert.

Position 4: TMB-SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin 0,26 mg/ml und H₂O₂ 0,01 %, stabilisiert in Citratpuffer 0,05 mol/l (pH-Wert 3,8).

Position 3: VERDÜNNER FÜR PROBEN

Inhalt: Proteinlösung, die Phenol 0,05 %, Bronidox 0,02 % und einen Indikator zum Nachweis von Serum enthält.

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: monoklonale Anti-Human-IgG-Antikörper (Höchstkonzentration 1,5 µg/ml), mit Peroxidase markiert, in Phosphatpufferlösung mit Phenol 0,05 % und Bronidox 0,02 %.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG, in die der Benutzer das unverdünnte Serum einfüllen muss.

Anwendung: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen, die gewünschten Geräte herausnehmen; die anderen in den Beutel mit dem Kieselgel legen, die Luft entweichen lassen und durch Andrücken des Verschlusses verschließen. Bei 2/8°C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,425 ml

Inhalt: Verdünntes, flüssiges, gebrauchsfertiges Humanserum, bekannte Konzentration von Antikörpern mit Proclin und Gentamicin.

CONTROL + POSITIVKONTROLLE 1 x 0,425 ml

Inhalt: Verdünntes, flüssiges, gebrauchsfertiges Humanserum, bekannte Konzentration von Antikörpern mit Proclin und Gentamicin.

Die Zuverlässigkeit der Messungen der Kalibriervorrichtung und der Positivkontrolle wird durch die unten beschriebene Rückführbarkeitskette gewährleistet.

Der Kalibrator und die Positivkontrolle werden aus einer Humanprobe mit einer bekannten Antigenkonzentration hergestellt, die auf eine bestimmte Konzentration verdünnt wurde, deren Bereich chargenabhängig ist und wird während der Freigabephase der Qualitätskontrolle mithilfe einer Reihe von Sekundärkalibratoren („Working calibrator“) zugewiesen.

Die Sekundärkalibratoren („Working calibrator“) werden anhand einer Reihe von menschlichen Referenzseren mit unterschiedlichen Antigenspiegeln hergestellt und charakterisiert.

SONSTIGES ERFORDERLICHES, ABER NICHT GELIEFERTES MATERIAL.

- WASCHPUFFER [REF] 83606
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 [REF] 83609
- DESINFEKTIONS-LÖSUNG [REF] 83604 - 83608
- CHORUS-NEGATIVKONTROLLE/PROBENVERDÜNNER [REF] 83607
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Normales Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten, mit denen sich Volumina von 50-200 µl genau entnehmen lassen.
- Einweghandschuhe
- 5%ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter für die Sammlung von potenziell infiziertem Material

6. LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2/8°C gelagert werden. Im Falle einer falschen Lagertemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses durch das Kontrollserum überprüft werden (siehe Kapitel 9: Test-Validierung).

Das Verfallsdatum ist auf jedem Bestandteil und auf dem äußeren Verpackungsetikett aufgedruckt.

Die Reagenzien sind nach dem Öffnen und/oder der Zubereitung nur begrenzt stabil:

GERÄTE	8 Wochen bei 2/8°C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2/8°C
POSITIVKONTROLLE	8 Wochen bei 2/8°C

7. ART DER PROBE UND LAGERUNG

Bei der Probe handelt es sich um Serum, das aus durch Venenpunktion entnommenem Blut gewonnen und gemäß den Standardlaborverfahren behandelt wird.

Gemäß der CLSI-Richtlinie H18-A3 müssen die zu analysierenden Serumproben vor der Zentrifugation koaguliert werden; die spontane und vollständige Koagulation erfolgt normalerweise innerhalb von 30-60 Minuten bei 22°C-25°C. Es wird empfohlen, das Serum durch Zentrifugation so schnell wie möglich von den Zellen zu trennen, wobei die maximale Zeitspanne 2 Stunden ab dem Zeitpunkt der Entnahme beträgt.

Frisches Serum ist bei 2/8°C 4 Tage lang haltbar; bei längerer Lagerung sollte es bei ≤ -20°C für höchstens 47 Monate eingefroren werden.

Vermeiden Sie die Verwendung von selbstabtauenden Gefriergeräten für die Probenlagerung. Die Probe kann maximal 3 Mal aufgetaut werden. Nach dem Auftauen vor der Dosierung sorgfältig schütteln. Die Qualität der Probe kann durch mikrobielle Verunreinigungen stark beeinträchtigt werden, was zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann.

Stark lipämische, ikterische, hämolysierte oder verunreinigte Proben sollten nicht verwendet werden.

Der Test ist nicht auf Humanplasma anwendbar.

8. VERFAHREN

1. Öffnen Sie den Beutel (Seite mit dem Druckverschluss), nehmen Sie die Geräte heraus, die Sie für die Prüfungen benötigen, und bewahren Sie die übrigen auf, indem Sie den Beutel nach dem Entlüften wieder verschließen.
2. Führen Sie eine Sichtprüfung des Gerätestatus gemäß den Anweisungen in Kapitel 6 Analytische Warnhinweise Punkt 1 und 8 durch.
3. 50 µl des zu analysierenden unverdünnten Serums in die Vertiefung Nr. 1 jedes Geräts geben, bei jedem Chargenwechsel ein Kalibriergerät verwenden.
4. Legen Sie die Geräte in das Instrument Chorus/Chorus TRIO ein. Führen Sie die Kalibrierung (falls erforderlich) und den Test gemäß der Gebrauchsanweisung des Instruments durch.

9. TEST-VALIDIERUNG

Verwenden Sie das Serum zur Kontrolle, um die Richtigkeit des erhaltenen Ergebnisses zu überprüfen, indem Sie es wie in dem Benutzerhandbuch des Instruments beschrieben verarbeiten. Zeigt das Instrument an, dass der Wert des Kontrollserums außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, muss die Kalibrierung erneut durchgeführt werden. Frühere Ergebnisse werden automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis des Kontrollserums weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, wenden Sie sich an den Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554

E-Mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Das Instrument Chorus/Chorus TRIO liefert ein semiquantitatives Ergebnis in AU/ml anhand einer im Instrument gespeicherten (chargenabhängigen) Kurve.

Der Grad der Immunität des Testserums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: Wenn das Ergebnis > 18 AU/ml ist

NEGATIV: Wenn das Ergebnis < 12 AU/ml ist

ZWEIFELHAFT/ZWEIDEUTIG: wenn das Ergebnis zwischen 12 und 18 AU/mL liegt

Titel	Auswertung der Ergebnisse		CHORUS-Ergebnis
> 40 AU/mL	Hoher Titel	Titel, der mit einer laufenden oder kürzlich erfolgten M.-Pneumoniae-Infektion vereinbar ist	P

≤40 AU/mL >18 AU/mL	Moderater Titel	Die Auswertung kann erst nach einer weiteren Probenahme 8- 15 Tage später erfolgen.	P
≤18 AU/mL ≥12 AU/mL	Niedriger Titel		D/E
<12 AU/mL	Unbedeutender Titel		N

Das Instrument meldet >, wenn die AU/mL größer als 100 AU/mL ist; in diesem Fall verdünnen Sie die Probe mit Sample Diluent/Negative Control REF 83607 (z. B. 1 :3) und wiederholen Sie den Test. Das Ergebnis sollte mit der verwendeten Verdünnung multipliziert werden. Im Falle eines zweifelhaften/zweideutigen Ergebnisses ist der Test zu wiederholen. Bleibt das Ergebnis zweifelhaft/zweideutig, wiederholen Sie die Entnahme.

11. GRENZEN DES TESTS

Ein negatives Ergebnis schließt eine Mycoplasma-Infektion nicht aus: Bei klinischem Verdacht ist der Test 15 Tage später zu wiederholen.

Seren, die während der akuten Phase der Infektion entnommen werden, können nur für Antikörper der IgM-Klasse positiv sein. Es wird daher empfohlen, auch den IgM-Spiegel mit dem Mycoplasma-IgM-Kit (Ref. 81035) zu bestimmen. Als Alternative wird eine zweite Probe, die 8-14 Tage später entnommen wird, auf eine mögliche Zunahme der IgM-Antikörper untersucht.

Das Testergebnis muss jedoch zusammen mit Daten aus der Krankengeschichte des Patienten und/oder anderen diagnostischen Untersuchungen bewertet werden.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich 0-100,0 AU/ml.

Bei Proben >100,0 AU/ml wiederholen Sie den Test, indem Sie die Probe in Negativkontrolle/Probenverdünnungsmittel (PF83607 - nicht mit dem Kit geliefert) vorverdünnen.

13. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Das Vorhandensein potenzieller Störfaktoren wie CRP, Bilirubin, Rheumafaktor, Hämolyse und Triglyzeride in der Probe hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

14. VERGLEICHENDE STUDIEN

Es wurden 61 Proben analysiert, von denen 42 mit dem Chorus-Kit im Vergleich zu einem anderen kommerziell erhältlichen Kit positiv und 19 negativ waren. Nicht übereinstimmende Ergebnisse wurden mit Western Blot als Referenz analysiert. Zweifelhafte Proben wurden als positiv eingestuft. Das Diesse-Kit lieferte 2 falsch positive Ergebnisse.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Referenz		
+	-	Insgesamt
		t

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

Empfindlichkeit 100,0 % CI_{95%}: 91,2 bis 100,0

Besonderheiten 90,5 % CI_{95%}: 71,1 bis 97,3

Positiv prädiktiver Wert (PPV): = 95,2 CI_{95%}: 89,9 – 100,0

Negativ prädiktiver Wert (NPV): = 100,0 CI_{95%}: 100,0 – 100,0

15. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Tabelle 1. Präzision innerhalb der Sitzung

	Anzahl der Replikate	Durchschnittswert AU/ml	Std-Abw.	CV%
Chargen-Nr. 475	9	61,0	2,80	4,6
Chargen-Nr. 459	9	45,3	4,90	10,8
Chargen-Nr. 504	9	37,4	4,84	12,9

Tabelle 2. Präzision zwischen Sitzungen und zwischen Chargen

Probe	Durchschnittswert AU/ml			Durchschnittswert	D. S.	CV%
	Chargen 475	Chargen 459	Chargen 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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. VORFALLBERICHT

Wenn sich im Zusammenhang mit diesem Gerät im Marktgebiet der Europäischen Union ein schwerer Unfall ereignet hat, melden Sie dies bitte unverzüglich dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedstaates.

18. ZUSAMMENFASSUNG DER SICHERHEIT UND LEISTUNG

Dieses Dokument, das in der EUDAMED-Datenbank zur Verfügung gestellt wird (sobald sie vollständig implementiert und funktionsfähig ist), ist Teil der technischen Dokumentation und kann beim Hersteller angefordert werden.



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. URČENÉ POUŽITÍ

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) je imunologická souprava pro semikvantitativní automatické stanovení protilátek IgG proti Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae je nejčastějším etiologickým agens způsobujícím komunitní zápal plic IgG se objevuje až po IgM a IgA a obvykle dosahuje vrcholu během 5. týdne, proto se souprava používá jako pomůcka při diagnostice infekce zápalu plic.

Test, který se provádí na lidském séru pomocí jednorázového zařízení připojeného k přístrojům CHORUS a CHORUS TRIO, by měl používat pouze odborný laboratorní personál.

2. ÚVOD

Mycoplasma pneumoniae je nejčastějším etiologickým původcem komunitního zápalu plic, zejména ve věkové skupině 5 až 30 let; může být zodpovědná za epidemie, které se rozvíjejí pomalu, protože inkubační doba se pohybuje od 10 do 14 dnů a nákaza zahrnuje blízké kontakty nebo oddělené skupiny (školy, kasárny, domácnosti). Mykoplazmová pneumonie se také nazývá primární atypická pneumonie nebo pneumonie způsobená Eatonovým agens. M. pneumoniae napadá a ničí řasinkové epitelové buňky sliznice dýchacích cest. Mikroskopicky způsobuje intersticiální pneumonii, bronchitidu a bronchiolitidu.

V případě zápalu plic jsou vzhledem k recidivě příznaků u různých etiologických agens pro diagnostiku akutní infekce nezbytné další diagnostické prostředky, jako jsou sérologické testy.

Zdá se, že imunitní odpověď po infekci Mycoplasma pneumoniae souvisí s typem samotné infekce: protilátky třídy IgM jsou častěji přítomny v případech primární infekce, což dokládá jejich výskyt u mladších pacientů. U starších pacientů s vyšší pravděpodobností opakované infekce je IgM nízký nebo nedetekovatelný; naproti tomu IgA je marker s nejvyšší citlivostí u probíhajících infekcí, opakovaných infekcí nebo nedávných infekcí.

Specifické protilátky třídy A se objevují brzy, na začátku onemocnění, a dosahují vysokých titrů během prvních 4 týdnů, poté náhle klesají před IgG, což umožňuje diagnostiku akutní infekce i z jediného vzorku krve. IgG se objevuje až po IgM a IgA, v průměru vrcholí v 5. týdnu. Vysoký titr doprovázený výrazným zvýšením mezi 2 odběry s odstupem přibližně dvou týdnů potvrzuje přítomnost probíhající infekce.

3. PRINCIP METODY

Test je založen na principu ELISA (Enzymově vázaná imunosorbční analýza).

Sonikovaný a rozpuštěný antigen mykoplazmy se naváže na pevnou fázi. Inkubací se zředěným lidským sérem se na antigen naváží specifické imunoglobuliny. Po promytí k odstranění nezreagovaných proteinů se provede inkubace s konjugátem sestávajícím z monoklonálních protilátek proti lidskému IgG konjugovaných s křenovou peroxidázou. Nenavázaný konjugát se odstraní a přidá se substrát pro peroxidázu.

Barva, která se vytvoří, je úměrná koncentraci specifických protilátek přítomných v testovaném séru.

Jednorázová zařízení obsahují všechna činidla k provedení testu, pokud jsou použita na přístrojích Chorus/Chorus TRIO. Výsledek je vyjádřen v AU/ml a vypočten na základě křivky vnitřního standardu.

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a shledány negativními na HBsAg a na protilátky anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Vzhledem k tomu, že žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku nepřítomnosti infekčních agens, musí být jakýkoli materiál lidského původu považován za potenciálně infikovaný. Se všemi činidly a vzorky se musí zacházet v souladu s bezpečnostními pravidly obvyklými v laboratoři.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a proužky je třeba zacházet jako s infikovanými zbytky a poté je zlikvidovat v souladu s předpisy.

Upozornění týkající se bezpečnosti personálu

1. Nepipetujte ústy.
2. Při manipulaci se vzorky a během testu používejte jednorázové rukavice a ochranu očí.
3. Po dokončení testu si důkladně umyjte ruce.
4. Bezpečnostní charakteristiky činidel obsažených v soupravě naleznete v bezpečnostním listu (k dispozici na webových stránkách společnosti DIESS: www.diesse.it)
5. Neutralizované kyseliny a jiné kapalné odpady by měly být dezinfikovány přidáním chlornanu sodného v dostatečném množství, aby bylo dosaženo konečné koncentrace alespoň 1 %. K zajištění účinné dezinfekce by mělo stačit působení 1% chlornanu sodného po dobu 30 minut.
6. Jakékoli rozlití potenciálně infikovaných materiálů musí být okamžitě odstraněno pomocí absorpčního papíru a znečištěný prostor musí být před pokračováním v práci dekontaminován, např. 1% chlornanem sodným. Pokud je přítomna kyselina, chlornan sodný nesmí být použit dříve, než bude zóna vysušena. Veškeré materiály použité k dekontaminaci náhodně rozlitých látek, včetně rukavic, by měly být zlikvidovány jako potenciálně infekční odpad. Materiály s obsahem chlornanu sodného nekládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Zařízení, která se mají použít, uveďte před použitím na pokojovou teplotu (18-30 °C) po dobu nejméně 30 minut a použijte je do 60 minut.

1. Zařízení se substrátem (jamka 4) obarveným na modro vyhodíte.

- Při přidávání vzorku do jamky zkontrolujte, zda je dokonale rozložen na dně.
- Zkontrolujte skutečnou přítomnost činidel v zařízení a neporušenost samotného zařízení, nepoužívejte zařízení, které při vizuální kontrole vykazují nedostatek některého činidla.
- Zařízení je nutné používat společně s přístrojem Chorus, přičemž je nutné striktně dodržovat návod k použití a příručku k přístroji.

Použití soupravy je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný v přístroji odpovídá nebo má vyšší verzi (Rel.), než je uvedeno v tabulce na webových stránkách společnosti Diesse.

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

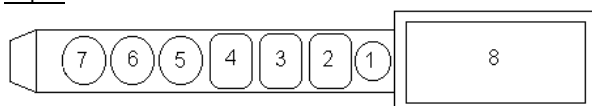
- Zkontrolujte, zda je přístroj Chorus správně nastaven (viz Uživatelská příručka Chorus).
- Čárový kód na rukojeti zařízení neměňte, aby jej přístroj správně odečetl.
- Vyhnete se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků.
- Vadné čárové kódy lze do přístroje zadat ručně.
- Během skladování a používání nevystavujte zařízení silnému světlu či chlomanovým výparům.
- Nepoužívejte hemolyzované, lipaemické a ikterické vzorky s vyšší koncentrací interferenčních látek, než je testovaná koncentrace (podle údajů v kapitole „Analytická specifikta“).
- Nepoužívejte zařízení po uplynutí doby použitelnosti
- Zkontrolujte, zda je přístroj připojen k promývacímu pufru (Ref. 83606)**

5. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA ČINIDEL

Souprava vystačí na 36 stanovení.

DD ZAŘÍZENÍ 6 balení každé po 6 zařízeních

Popis:



Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: Sensibilizován antigenem Mycoplasma pneumoniae: maximální koncentrace 2,51 µg/ml

Pozice 5: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU nesesenzibilizovaná.

Pozice 4: SUBSTRÁT TMB

Obsah: Tetrametylbenzidin 0,26 mg/ml a H₂O₂ 0,01 % stabilizovaný v citrátovém pufru 0,05 mol/l (pH 3,8).

Pozice 3: ŘEDIDLO PRO VZORKY

Obsah: Roztok bílkovin obsahující fenol 0,05 %, Bronidox 0,02 % a indikátor ke zjištění přítomnosti séra.

Pozice 2: KONIUGOVANÉ

Obsah: monoklonální protilátky proti lidskému IgG značené peroxidázou (maximální koncentrace 1,5 µg/ml) ve fosfátovém pufovaném roztoku obsahujícím 0,05 % fenolu a 0,02 % Bronidoxu.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA, kde musí uživatel dávkovat neředěné sérum.

Použití: jeden sáček vyrovnáte na pokojovou teplotu, otevřete sáček, vyjměte potřebné pomůcky; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vypustíte vzduch a **uzavřete** stisknutím na straně zavírání. Skladujte při teplotě 2/8 C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0,425 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum, známá koncentrace protilátek s Proclinem a Gentamicinem, tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum, známá koncentrace protilátek s Proclinem a Gentamicinem, tekutina připravená k použití. Spolehlivost měření kalibrátoru a pozitivní kontroly je zaručena řetězcem sledovatelnosti popsaným níže.

Kalibrátor a pozitivní kontrola jsou vyrobeny z lidského vzorku o známé koncentraci protilátek, zředěného tak, aby bylo dosaženo specifické koncentrace, jejíž rozsah závisí na šarži a je přiřazen během fáze uvolňování kontroly kvality pomocí řady sekundárních kalibrátorů („pracovní kalibrátor“). Pracovní kalibrátory jsou připraveny a charakterizovány podle panelu lidských referenčních sér s různými hladinami antigenu.

DALŠÍ POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- ČISTICÍ ROZTOK 2000 **REF** 83609
- SANITAČNÍ ROZTOK **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVNÍ KONTROLA/ŘEDIDLO PRO VZORKY **REF** 83607
- Přístroj Chorus/Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: válce, zkumavky atd.
- Mikropipety schopné přesně odebírat objemy 50-200 µl
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby pro sběr potenciálně infikovaných materiálů

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA ČINIDEL

Činidla musí být skladovány při teplotě 2/8 °C. V případě nesprávné skladovací teploty je třeba kalibraci opakovat a správnost výsledku zkontrolovat pomocí kontrolního séra (viz kapitola 9: validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každé složce a na vnějším štítku balení.

Činidla mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

ZAŘÍZENÍ	8 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8°C

7. TYP VZORKU A SKLADOVÁNÍ

Vzorek je sérum získané z krve odebrané ze žíly a zpracované podle standardních laboratorních postupů.

Podle pokynu CLSI H18-A3 musí být vzorky séra určené k analýze před centrifugací sráženy; spontánní a úplná koagulace obvykle probíhá během 30-60 minut při 22 °C-25 °C. Doporučuje se, aby sérum bylo co nejdříve fyzicky odděleno centrifugací od kontaktu s buňkami s maximálním časovým limitem 2 hodiny od odběru.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 4 dnů při teplotě 2/8 °C; pro delší skladování je třeba jej zmrazit při teplotě ≤ -20 °C na dobu nepřesahující 47 měsíců.

Vyhnete se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků. Vzorek lze rozmrazit maximálně třikrát. Po rozmrazení před dávkováním pečlivě protřepejte. Kvalita vzorku může být vážně ovlivněna mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

Silně lipemické, ikterické, hemolyzované nebo znečištěné vzorky by se neměly používat.

Test není použitelný pro lidskou plazmu.

8. POSTUP

1. Otevřete sáček (stranu s tlakovým zavíráním), vyjměte tolik zařízení, kolik je potřeba k provedení testů, a zbytek uložte tak, že sáček po odstranění vzduchu znovu uzavřete.
2. Vizuálně zkontrolujte stav zařízení podle pokynů v kapitole 6 Analytická upozornění, body 1 a 8.
3. Do jamky č. 1 každého zařízení dávkujte 50 µl neředěného analyzovaného séra, při každé výměně dávky použijte kalibrátor.
4. Umístěte zařízení na přístroj Chorus/Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li vyžadována) a test podle návodu k použití přístroje.

9. VALIDACE TESTU

Použijte kontrolní sérum k ověření správnosti získaného výsledku jeho zpracováním podle návodu k použití přístroje. Pokud přístroj indikuje, že kontrolní sérum má hodnotu mimo přijatelnou mez, je třeba kalibraci provést znovu. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte vědeckou podporu.

Tel.: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE TESTU

Přístroj Chorus/Chorus TRIO poskytuje semikvantitativní výsledek v AU/ml pomocí křivky (závislé na šarži) uložené v přístroji.

Stupeň imunity testovaného séra lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ je-li výsledek > 18 AU/ml

NEGATIVNÍ je-li výsledek < 12 AU/ml

SPORNÝ/NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek v rozmezí 12-18 AU/ml

Titř	Interpretace výsledků	Výsledek CHORUS
------	-----------------------	-----------------

> 40 AU/ml	Vysoký titř	Titř slučitelný s probíhající nebo nedávnou infekcí <i>M.pneumoniae</i>	P
≤ 40 AU/ml >18 AU/ml	Mírný titř	Interpretaci lze provést až po dalším odběru vzorků o 8-15 dní později.	P
≤ 18 AU/ml ≥12 AU/ml	Nízký titř		D/E
< 12 AU/ml	Nevýznačný titř		N

Přístroj signalizuje >, pokud je AU/ml vyšší než 100 AU/ml; v takovém případě zředte vzorek pomocí přípravku Ředidlo pro vzorky/Negativní kontrola 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, odeberte nový vzorek.

11. OMEZENÍ TESTU

Negativní výsledek nevylučuje mykoplazmovou infekci: v případě klinického podezření opakujte test po 15 dnech.

Séra odebraná během akutní fáze infekce mohou být pozitivní pouze na protilátky třídy IgM. Proto se doporučuje stanovit také hladinu IgM pomocí soupravy Mycoplasma IgM (ref. 81035). Případně bude analyzován druhý vzorek odebraný o 8-14 dní později ke kontrole možného zvýšení IgG.

Výsledek testu je však třeba vyhodnotit společně s údaji z anamnézy pacienta a/nebo nebo s dalšími diagnostickými vyšetřeními.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah 0-100,0 AU/ml.

U vzorků > 100,0 AU/ml zopakujte test předředěním vzorku v negativní kontrole/ředidle vzorku (PF83607 - není součástí soupravy).

13. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Přítomnost potenciálních interferentů, jako je PCR, bilirubin, revmatoidní faktor, hemolýza a triglyceridy, ve vzorku nemá na výsledek testu vliv.

14. SROVNÁVACÍ STUDIE

Bylo analyzováno 61 vzorků, z nichž 42 bylo pozitivních a 19 negativních pomocí soupravy Chorus ve srovnání s jinou komerčně dostupnou soupravou. Nesouhlasné výsledky byly analyzovány pomocí Western Blotu, který byl považován za referenční. Sporné vzorky byly považovány za pozitivní. Souprava Diesse poskytla 2 falešně pozitivní výsledky.

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

		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

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV): = 95,2 $CI_{95\%}$: 89,9 - 100,0

Negativní prediktivní hodnota (NPV): = 100,0 $CI_{95\%}$: 100,0–100,0

15. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Tabulka 1. Přesnost v rámci měření

	Počet opakování	Průměr (AU/ml)	D.S.	CV%
Šarže č. 475	9	61,0	2,80	4,6
Šarže č. 459	9	45,3	4,90	10,8
Šarže č. 504	9	37,4	4,84	12,9

Tabulka 2. Přesnost mezi měřeními a mezi šaržemi

Vzorek	Průměr (AU/ml)			Střední	D. S.	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

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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. HLÁŠENÍ NEŽÁDOUCÍ UDÁLOSTI

Pokud došlo k vážné nehodě s tímto přístrojem na území Evropské unie, neprodleně ji nahlasejte výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.

18. SHRNUTÍ TÝKAJÍCÍ SE BEZPEČNOSTI A VÝKONNOSTI

Tento dokument, který bude zpřístupněn v databázi EUDAMED (až bude plně zavedena a funkční), je součástí technické dokumentace a lze si jej vyžádat od výrobce.



MODE D'EMPLOI

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Pour le diagnostic *in vitro* uniquement

1. UTILISATION PRÉVUE

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (RÉF. 81034) est un kit immunologique pour la détermination automatisée semi-quantitative des anticorps IgG contre Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae est l'agent étiologique le plus courant de la pneumonie communautaire. Les IgG apparaissent après les IgM et les IgA et atteignent généralement leur pic au cours de la 5^e semaine. Le kit est donc utilisé comme aide au diagnostic de l'infection par la pneumonie.

Le test, réalisé sur du sérum humain à l'aide d'un dispositif jetable fixé aux instruments CHORUS ET CHORUS TRIO, ne doit être utilisé que par du personnel de laboratoire professionnel.

2. INTRODUCTION

Mycoplasma pneumoniae est l'agent étiologique le plus courant de la pneumonie communautaire, en particulier dans la tranche d'âge de 5 à 30 ans ; elle peut être responsable d'épidémies qui se développent lentement, car la période d'incubation varie de 10 à 14 jours et la contagion implique des contacts étroits ou des groupes séparés (écoles, casernes, ménages). La pneumonie à mycoplasme 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 des voies respiratoires. Au microscope, elle provoque des pneumonies interstitielles, des bronchites et des bronchiolites.

En cas de pneumonie, compte tenu de la récurrence des symptômes pour différents agents étiologiques, des moyens diagnostiques supplémentaires tels que des tests sérologiques sont nécessaires pour le diagnostic de l'infection aiguë.

La réponse immunitaire après une infection par Mycoplasma pneumoniae semble être liée au type d'infection lui-même : les anticorps de classe IgM sont présents plus fréquemment dans les cas de primo-infection, comme le montre leur présence chez les patients plus jeunes. Chez les patients plus âgés présentant une probabilité plus élevée de réinfection, les IgM sont faibles ou indétectables ; en revanche, les IgA s'avèrent le marqueur le plus sensible dans les infections en cours, les réinfections ou les infections récentes.

Les anticorps spécifiques de classe A apparaissent tôt, au début de la maladie, et atteignent des titres élevés au cours

des 4 premières semaines, puis diminuent brusquement avant les IgG, ce qui permet de diagnostiquer l'infection aiguë à partir d'un seul prélèvement. Les IgG apparaissent après les IgM et les IgA, avec un pic en moyenne à la 5^e semaine. Un titre élevé, accompagné d'une augmentation significative entre deux prélèvements effectués à environ deux semaines d'intervalle, confirme 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 de Mycoplasma, sonifié et solubilisé, est lié à la phase solide. Les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène par incubation avec du sérum humain dilué. Après lavage pour éliminer les protéines n'ayant pas réagi, une incubation est réalisée avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgG humaines conjugués à la peroxydase de raifort. Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

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

Les dispositifs jetables contiennent tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test lorsqu'ils sont appliqués aux instruments Chorus/Chorus TRIO. Le résultat est exprimé en UA/ml calculées par rapport à une courbe standard interne.

4. PRÉCAUTIONS

À DES FINS DE DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT.

Ce kit contient des matériaux d'origine humaine qui ont été testés et se sont révélés négatifs pour le HBsAg et les anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-VHC. Aucun test de diagnostic ne pouvant garantir l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être manipulés conformément aux règles de sécurité normalement adoptées dans le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les étalons et les bandelettes utilisées doivent être traitées comme des résidus infectés, puis éliminés conformément aux dispositions de la loi.

Avertissements en matière de sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et de l'essai.
3. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
4. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit, consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur le site Internet de DIESSE : www.diesse.it).
5. Les acides neutralisés et autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant de l'hypochlorite de sodium dans un volume suffisant pour obtenir une concentration finale d'au moins 1 %. Une exposition à

l'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 30 minutes devrait suffire à garantir une désinfection efficace.

6. Tout déversement de matériaux potentiellement infectés doit être immédiatement éliminé à l'aide de papier absorbant et la zone polluée doit être décontaminée, par exemple avec de l'hypochlorite de sodium à 1 %, avant de poursuivre le travail. Si un acide est présent, l'hypochlorite de sodium ne doit pas être utilisé avant que la zone ait été séchée.
- Tous les matériaux utilisés pour décontaminer les déversements accidentels, y compris les gants, doivent être éliminés comme des déchets potentiellement infectieux. Ne pas autoclaver les matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Avertissements analytiques

Avant utilisation, les dispositifs doivent être amenés à température ambiante (18-30 °C) pendant au moins 30 minutes et être utilisés dans les 60 minutes.

1. **Jeter les dispositifs dont le substrat (puits 4) est coloré en bleu.**
2. Lors de l'ajout de l'échantillon dans le puits, vérifier qu'il soit parfaitement réparti sur le fond.
3. Vérifier la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif lui-même, ne pas utiliser des dispositifs qui présentent un manque de réactif lors d'un contrôle visuel.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en respectant strictement le mode d'emploi et le manuel de l'instrument.

L'utilisation du kit n'est possible qu'avec une version actualisée du logiciel. S'assurer que le logiciel installé dans l'instrument corresponde ou ait une Release (Rel.) supérieure à celle indiquée dans le tableau publié sur le site web de Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

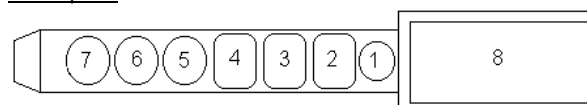
5. Vérifier que l'instrument Chorus soit correctement configuré (voir le manuel d'utilisation de Chorus).
6. Ne pas modifier le code-barres de la poignée du dispositif afin qu'il puisse être lu correctement par l'instrument.
7. Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons.
8. Les codes-barres défectueux peuvent être introduits manuellement dans l'instrument.
9. Ne pas exposer les dispositifs à une lumière forte ou à des vapeurs d'hypochlorite pendant le stockage et l'utilisation.
10. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés, lipémiques, ictériques avec une concentration d'interférents supérieure à celle testée (selon les indications du chapitre « Spécificité analytique »).
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption
12. **Vérifier que l'instrument dispose d'une connexion avec le Washing Buffer (Réf. 83606)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit est suffisant pour 36 déterminations.

DISPOSITIFS 6 paquets de 6 dispositifs chacun

Description :



Position 8 : Espace disponible pour l'étiquette code-barres

Position 7 : vide

Position 6 : Sensibilisé à l'antigène de Mycoplasma pneumoniae : concentration maximale 2,51 µg/ml

Position 5 : PUIITS DE MICROPLAQUE non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine 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 ÉCHANTILLONS
Contenu : Solution protéique contenant du Phénol 0,05%, du Bronidox 0,02% et un indicateur pour détecter la présence de sérum.

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : anticorps monoclonaux anti-IgG (concentration maximale 1,5 µg/ml) humaines marqués à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du Phénol à 0,05 % et du Bronidox à 0,02 %.

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

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, retirer les dispositifs nécessaires ; placer les autres dans le sachet contenant le gel de silice, laisser l'air s'échapper et **sceller** en appuyant sur la fermeture. Conserver à 2/8 °C.

CALIBRATOR ÉTALON 1 x 0,425 mL

Contenu : Sérum humain dilué, à concentration connue d'anticorps avec Proclin et Gentamicine, liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,425 mL

Contenu : Sérum humain dilué, à concentration connue d'anticorps avec Proclin et Gentamicine, liquide, prêt à l'emploi.

La fiabilité des mesures de l'étalon et du contrôle positif est garantie par la chaîne de traçabilité décrite ci-dessous.

L'étalon et le contrôle positif sont produits à partir d'un échantillon humain présentant une concentration connue d'antigènes dilués pour atteindre une concentration spécifique dont la plage dépend du lot et est attribuée lors la phase de libération du contrôle qualité à l'aide d'une série d'étalons secondaires (« Working calibrator »).

Les « Working calibrator » sont préparés et caractérisés en fonction d'un panel de sérums humains de référence présentant différents niveaux d'antigènes.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI.

- WASHING BUFFER **RÉF.** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **RÉF.** 83609
- SANITIZING SOLUTION **RÉF.** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **RÉF.** 83607
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou désionisée

- Verrerie de laboratoire normale : cylindres, tubes à essai, etc.
- Micropipettes capables de prélever avec précision des volumes de 50 à 200 µl
- Gants jetables
- Solution d'hypochlorite de sodium à 5 %
- Récipients pour la collecte de matériel potentiellement infecté

6. MODE DE STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à 2/8 °C. En cas de température de stockage incorrecte, l'étalonnage doit être répété et l'exactitude du résultat doit être vérifiée à l'aide du contrôle positif (voir chapitre 9 : validation du test).

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

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

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
ÉTALON	8 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET STOCKAGE

L'échantillon est le sérum obtenu à partir de sang prélevé par ponction veineuse et manipulé conformément aux procédures de laboratoire standard.

Selon la directive H18-A3 du CLSI, les échantillons de sérum à analyser doivent être coagulés avant d'être centrifugés ; la coagulation spontanée et complète se produit normalement en 30 à 60 minutes à une température de 22 à 25 °C. Il est recommandé de séparer physiquement le sérum, par centrifugation, du contact avec les cellules dès que possible, avec un délai maximum de 2 heures à partir du moment du prélèvement.

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours à 2/8 °C ; pour des périodes de stockage plus longues, il peut être congelé à des températures ≤ -20 °C pendant une période ne dépassant pas 47 mois.

Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. L'échantillon peut subir un maximum de 3 décongélations. Après décongélation, agiter soigneusement avant le dosage. La qualité de l'échantillon peut être sérieusement affectée par la contamination microbienne, ce qui peut conduire à des résultats erronés.

Les échantillons fortement lipémiques, ictériques, hémolisés ou pollués ne devraient pas être utilisés.

Le test n'est pas applicable au plasma humain.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (côté contenant le joint à pression), prendre le nombre de dispositifs nécessaires à la réalisation des tests et conserver les autres en fermant le sachet après avoir laissé sortir l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif conformément aux instructions du chapitre 6 Mises en garde analytiques, points 1 et 8.

3. Répartir 50 µl de sérum non dilué à analyser dans le puits n° 1 de chaque dispositif. À chaque changement de lot, utiliser un dispositif pour l'étalon.
4. Introduire les dispositifs sur l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer l'étalonnage (si nécessaire) et les tests conformément au manuel d'utilisation de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu en le traitant comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument indique que le sérum de contrôle positif a une valeur en dehors de la plage acceptable, l'étalonnage doit être effectué à nouveau. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du sérum de contrôle continue à se situer en dehors de la fourchette acceptable, contacter l'assistance scientifique.

Tél : 0039 0577 319554

courriel : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'instrument Chorus/Chorus TRIO fournit un résultat semi-quantitatif en UA/ml, au moyen d'une courbe (dépendant du lot) enregistrée par l'instrument.

Le degré d'immunité du sérum testé peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est > 18 UA/mL

NÉGATIF : lorsque le résultat est < 12 UA/mL

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE : lorsque le résultat est compris entre 12 et 18 UA/mL

Titre	Interprétation des résultats		Résultat CHORUS
> 40 UA/mL	Titre élevé	Titre compatible avec une infection à <i>M.pneumoniae</i> en cours ou récente	P
≤ 40 UA/mL	Titre modéré	L'interprétation ne peut se faire qu'après un nouveau prélèvement 8 à 15 jours plus tard.	P
≥ 18 UA/mL	Titre bas		D/E
< 12 UA/mL	Titre non significatif		N

L'instrument signale > lorsque les UA/mL sont supérieures à 100 UA/mL ; dans ce cas, diluer l'échantillon avec du Sample Diluent/Negative Control [REF.] 83607 (par ex. 1:3) et répéter le test. Le résultat doit être multiplié par la dilution utilisée.

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

11. LIMITES DU TEST

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

Les sérums prélevés pendant la phase aiguë de l'infection ne peuvent être positifs que pour les anticorps de la classe IgM. Il est donc recommandé de déterminer également le taux d'IgM à l'aide du kit Mycoplasma IgM (réf. 81035). Un second échantillon prélevé 8 à 14 jours plus tard sera analysé pour détecter une éventuelle augmentation des IgG. Le résultat du test doit toujours être évalué avec les données de l'histoire du patient et/ou d'autres investigations diagnostiques.

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 0-100,0 UA/ml.

Pour les échantillons >100,0 UA/ml, répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans du Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fourni avec le kit).

13. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

La présence dans l'échantillon d'interférents potentiels tels que la PCR, la bilirubine, le facteur rhumatoïde, l'hémolyse et les triglycérides n'influe pas sur le résultat du test.

14. ÉTUDES COMPARATIVES

61 échantillons ont été analysés, dont 42 se sont avérés positifs et 19 négatifs avec le kit Chorus par rapport à un autre kit disponible dans le commerce. Les résultats discordants ont été analysés avec le Western Blot considéré comme référence. Les échantillons douteux ont été considérés comme positifs. Le kit Diesse a donné 2 résultats faussement positifs.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

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

Sensibilité 100,0 % CI_{95%} : 91,2 à 100,0

Spécificité 90,5 % CI_{95%} : 71,1 à 97,3

Valeur prédictive positive (VPP) : = 95,2 CI_{95%} : 89,9 – 100,0

Valeur prédictive négative (VPN) : = 100,0 CI_{95%} : 100,0 – 100,0

15. PRÉCISION ET RÉPÉTABILITÉ

Tableau 1. Précision au sein de la session

	Nombre de répliques	Moyenne UA/ml	Dev. St.	CV%
Lot n° 475	9	61,0	2,80	4,6

Lot n° 459	9	45,3	4,90	10,8
Lot n° 504	9	37,4	4,84	12,9

Tableau 2. Précision entre les sessions et entre les lots

Échantillon	Moyenne UA/ml			Moyenne	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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. SIGNALISATION D'INCIDENT

Si un incident grave s'est produit en relation avec cet appareil sur le territoire de l'Union européenne, le signaler sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

18. RÉSUMÉ DE LA SÉCURITÉ ET DES PERFORMANCES

Ce document, qui sera disponible dans la base de données EUDAMED (lorsqu'elle sera entièrement mise en œuvre et opérationnelle), fait partie de la documentation technique et peut être demandé au fabricant.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (Κωδ. 81034) είναι ένα ανοσολογικό κιτ για τον ημιποσοτικό αυτοματοποιημένο προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG έναντι του μυκοπλάσματος της πνευμονίας (Mycoplasma pneumoniae).

Το μυκόπλασμα (Mycoplasma Pneumoniae) της πνευμονίας είναι το πιο κοινό παθογόνο αίτιο πνευμονίας της κοινότητας. Τα IgG εμφανίζονται μετά από τα IgM και τα IgA και, κατά κανόνα, φθάνουν στα μέγιστα επίπεδα την 5η εβδομάδα της λοίμωξης. Επομένως, το κιτ χρησιμοποιείται ως βοήθημα στη διάγνωση της λοίμωξης από πνευμονία.

Η δοκιμή, η οποία εκτελείται σε ανθρώπινο ορό με τη χρήση μιας συσκευής μιας χρήσης που συνδέεται με τα όργανα CHORUS και CHORUS TRIO, πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από επαγγελματίες, υπαλλήλους εργαστηρίου.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μυκόπλασμα της πνευμονίας (Mycoplasma pneumoniae) είναι το πιο κοινό παθογόνο αίτιο πνευμονίας της κοινότητας, ιδιαίτερα στις ηλικίες μεταξύ 5 και 30 ετών, μπορεί να προκαλέσει επιδημίες που εξελίσσονται αργά, καθώς το διάστημα επώασης κυμαίνεται μεταξύ 10 και 14 ημερών και η μετάδοση απαιτεί στενή επαφή ή κλειστές ομάδες (σχολεία, στρατώνες, οικογενειακό περιβάλλον). Η πνευμονία που οφείλεται στο μυκόπλασμα ονομάζεται επίσης άτυπη πρωτοπαθής πνευμονία ή πνευμονία του παράγοντα Eaton.

Το M. της πνευμονίας επιτίθεται και καταστρέφει τα κροσσωτά επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου της αναπνευστικής οδού. Κατά τη μικροσκοπική εξέταση διαπιστώνεται διάμεση πνευμονία, βρογχίτιδα και βρογχολίτιδα.

Στην περίπτωση της πνευμονίας, δεδομένης της επανεμφάνισης των συμπτωμάτων για διάφορους αιτιολογικούς παράγοντες, καθίσταται απαραίτητο να υπάρχουν συμπληρωματικά διαγνωστικά μέσα, όπως είναι οι ορολογικές δοκιμασίες, ώστε να διαγιγνώσκεται η οξεία λοίμωξη.

Η ανοσολογική απόκριση στη λοίμωξη από το Mycoplasma pneumoniae 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

Η δοκιμή βασίζεται στη 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. Αφού πραγματοποιηθούν εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται επώαση με το συζυγές που αποτελείται από μονόκλιωνα αντισώματα έναντι ανθρώπινων IgG συζευγμένων με υπεροξειδάση αγριοραφανιδίων. Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση.

Το μπλε χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των συγκεκριμένων αντισωμάτων που υπάρχουν στον ορό υπό εξέταση.

Οι συσκευές μιας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια για την εκτέλεση της δοκιμής όταν εφαρμόζονται στα όργανα Chorus/Chorus TRIO. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε AU/ml (αυθαίρετες μονάδες/ml), υπολογισμένες έχοντας μια καμπύλη εσωτερικού προτύπου ως αναφορά.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά σε δοκιμές που έχουν εγκριθεί από την FDA, για την ανίχνευση του HbsAg και των αντισωμάτων anti-HIV-1, anti-HIV-2 και anti-HCV. Δεδομένου ότι κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οποιοδήποτε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσμένο. Ο χειρισμός όλων των αντιδραστηρίων και των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους κανόνες ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

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

Προειδοποιήσεις προσωπικής ασφάλειας

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.

2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα και κατά τη διάρκεια της δοκιμής.
3. Πλύνετε τα χέρια σας σχολαστικά μόλις ολοκληρωθεί η δοκιμή.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο κιτ, ανατρέξτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (διαθέσιμο στον δικτυακό τόπο της DIESSE: www.diesse.it).
5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγραφεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να έχει στεγνώσει η περιοχή.
Όλα τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την απολύμανση τυχαίων διαρροών, συμπεριλαμβανομένων των γαντιών, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές προειδοποιήσεις

Πριν από τη χρήση, φέρτε τις συσκευές που θα χρησιμοποιηθούν σε θερμοκρασία δωματίου (18-30°C) για τουλάχιστον 30 λεπτά και χρησιμοποιήστε τις εντός 60 λεπτών.

1. **Απορρίψτε τις συσκευές με υπόστρωμα (κυψελίδα 4) χρώματος μπλε.**
2. Κατά την προσθήκη του δείγματος στην κυψελίδα, ελέγξτε ότι το δείγμα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένο στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στη συσκευή όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιείτε συσκευές που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστήριου.
4. Οι συσκευές πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με το όργανο Chorus, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου.
Η χρήση του κιτ είναι δυνατή μόνο με μια ενημερωμένη έκδοση λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που είναι εγκατεστημένο στο όργανο ταιριάζει ή έχει έκδοση (Rel.) υψηλότερη από τον πίνακα που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>).
5. Ελέγξτε ότι το όργανο Chorus έχει ρυθμιστεί σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης Chorus).

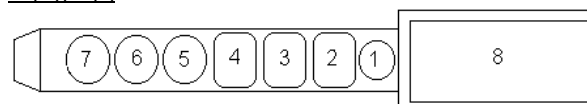
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό στη λαβή της συσκευής, ώστε το όργανο να μπορεί να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση δειγμάτων.
8. Οι ελαττωματικοί γραμμωτοί κώδικες μπορούν να εισαχθούν χειροκίνητα στο όργανο.
9. Μην εκθέτετε τις συσκευές σε έντονο φως ή ατμούς υποχλωριώδους κατά την αποθήκευση και τη χρήση.
10. Μην χρησιμοποιείτε αιμολυμένα, λιπαιμικά, ικτερικά δείγματα με συγκέντρωση παρεμβαλλόμενων παραγόντων υψηλότερη από εκείνη που έχει δοκιμαστεί (σύμφωνα με τις υποδείξεις στο κεφάλαιο "Αναλυτική ειδικότητα").
11. Μην χρησιμοποιείτε τη συσκευή μετά την ημερομηνία λήξης.
12. **Ελέγξτε ότι το όργανο διαθέτει σύνδεση με το Washing Buffer (Κωδ. 83606)**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ επαρκεί για 36 προσδιορισμούς.

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ 6 πακέτα των 6 συσκευών το κάθε ένα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: άδεια

Θέση 6: Ευαισθητοποιημένη με αντιγόνο *Mycoplasma pneumoniae*: μέγιστη συγκέντρωση 2,51 μg/ml

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ 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: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: Ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IgG (μέγιστη συγκέντρωση 1.5 μg/ml) μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ όπου ο χρήστης πρέπει να διανέμει τον μη αραιωμένο ορό.

Χρήση: ισορροπήστε ένα φακελάκι σε θερμοκρασία δωματίου, ανοίξτε το φακελάκι, βγάλτε τις απαιτούμενες συσκευές· τοποθετήστε τις υπόλοιπες στο φακελάκι που περιέχει πυριτική γέλη, αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε** πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Φυλάσσεται στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.425 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός, σε γνωστή συγκέντρωση αντισωμάτων με Proclin και γενταμικίνη, υγρός, έτοιμος προς χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0.425 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός, σε γνωστή συγκέντρωση αντισωμάτων με Proclin και γενταμικίνη, υγρός, έτοιμος προς χρήση.

Η αξιοπιστία των μετρήσεων του Βαθμονομητή και του Θετικού Μάρτυρα διασφαλίζεται από την αλυσίδα ιχνηλασιμότητας που περιγράφεται κατωτέρω.

Ο Βαθμονομητής και ο Θετικός Μάρτυρας παράγονται από ένα ανθρώπινο δείγμα με γνωστή συγκέντρωση αντιγόνων αραιωμένων σε συγκεκριμένη συγκέντρωση, το εύρος της οποίας εξαρτάται από την παρτίδα και αποδίδεται κατά τη φάση απελευθέρωσης του ποιοτικού ελέγχου με τη χρήση μιας σειράς δευτερευόντων βαθμονομητών ("Working calibrator").

Οι "Working calibrator" παρασκευάζονται και χαρακτηρίζονται σύμφωνα με μια ομάδα ανθρώπινων ορών αναφοράς με διαφορετικά επίπεδα αντιγόνων.

ΆΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ.

- WASHING BUFFER [ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΠΛΥΣΗΣ] [ΚΩΔ.] 83606
- CLEANING SOLUTION [Διάλυμα καθαρισμού] 2000 [ΚΩΔ.] 83609
- SANITIZING SOLUTION [ΑΠΟΛΥΜΑΝΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ] [ΚΩΔ.] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [Αρνητικός μάρτυρας/Αραιωτικό δείγματος] [ΚΩΔ.] 83607
- Όργανο Chorus/Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 µl
- Γάντια μιας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για τη συλλογή δυνητικά μολυσμένων υλικών

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να συντηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση λανθασμένης θερμοκρασίας αποθήκευσης, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και πρέπει να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος με τη βοήθεια του μάρτυρα (βλ. κεφάλαιο 9 εγκυρότητα της δοκιμής).

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

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

ΣΥΣΚΕΥΕΣ 8 εβδομάδες στους 2/8°C
 ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 8 εβδομάδες στους 2/8°C
 ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 8 εβδομάδες στους 2/8°C

7. ΤΥΠΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

Το δείγμα αποτελείται από ορό που προέρχεται από αίμα που λήφθηκε με κανονική φλεβοκέντηση και που έχει

περάσει από τις διαδικασίες που απαιτούνται από τους καθιερωμένους κανονισμούς εργαστηρίου.

Σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή H18-A3 της CLSI, τα δείγματα ορού για ανάλυση πρέπει να πηχτούν πριν από τη φυγοκέντρωση ή αυθόρμητη και πλήρης πήξη πραγματοποιείται συνήθως εντός 30-60 λεπτών στους 22°C-25°C. Συνιστάται ο φυσικός διαχωρισμός του ορού, με φυγοκέντρωση, από την επαφή με τα κύτταρα το συντομότερο δυνατό, με μέγιστο χρονικό όριο τις 2 ώρες από τη στιγμή της συλλογής.

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C- για μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης, καταψύξτε σε θερμοκρασίες ≤ -20°C για χρονικό διάστημα που δεν υπερβαίνει τους 47 μήνες.

Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση δειγμάτων. Το δείγμα μπορεί να υποστεί το πολύ 3 αποψύξεις. Μετά την απόψυξη, ανακινήστε προσεκτικά πριν από τη δοσομέτρηση. Η ποιότητα του δείγματος μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά από μικροβιακή μόλυνση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα αποτελέσματα.

Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται δείγματα με έντονη λιπαιμία, ικτερικά, αιμολυτικά ή μολυσμένα.

Η δοκιμή δεν εφαρμόζεται στο ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε το φακελάκι (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε τον αριθμό των συσκευών που απαιτούνται για τη διενέργεια των δοκιμών και κρατήστε τις υπόλοιπες κλείνοντας και πάλι το φακελάκι αφού αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση της συσκευής σύμφωνα με τις οδηγίες του κεφαλαίου 6 Αναλυτικές Προειδοποιήσεις σημεία 1 και 8.
3. Διανείμετε 50 µl μη αραιωμένου ορού προς ανάλυση στην κυψελίδα αριθ. 1 κάθε συσκευής σε κάθε αλλαγή παρτίδας χρησιμοποιήστε μια συσκευή βαθμονόμησης.
4. Εισαγάγετε τις συσκευές στο όργανο Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε βαθμονόμηση (εάν απαιτείται) και τη δοκιμή σύμφωνα με το Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Χρησιμοποιήστε τον ορό του μάρτυρα για να επαληθεύσετε την ορθότητα του λαμβανόμενου αποτελέσματος, ακολουθώντας τη διαδικασία που υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου. Αν το όργανο προειδοποιήσει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή εκτός αποδεκτής διακυμάνσεως, χρειάζεται να επαναληφθεί η βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Εάν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός του αποδεκτού εύρους, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

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:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 18 AU/mL

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 12 AU/mL

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 12-18 AU/mL

Βαθμός	Ερμηνεία των αποτελεσμάτων		Αποτέλεσμα CHORUS
> 40 AU/mL	Υψηλού βαθμού	Βαθμός συμβατός με εν εξελίξει ή πρόσφατη λοίμωξη από <i>M.pneumoniae</i>	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Μέτριου βαθμού	Η ερμηνεία μπορεί να γίνει μόνο μετά από άλλη δειγματοληψία 8-15 ημέρες αργότερα.	P
≤ 18 AU/mL ≥ 12 AU/mL	Χαμηλού βαθμού		D/E
< 12 AU/mL	Όχι σημαντικού 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 (π.χ. 1 :3) και επαναλάβετε τη δοκιμή. Το αποτέλεσμα πρέπει να πολλαπλασιαστεί με τη χρησιμοποιούμενη αραιώση. Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε τη δοκιμή. Εάν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές, επαναλάβετε τη δειγματοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει τη μόλυνση από μυκόπλασμα: σε περίπτωση κλινικής υποψίας, επαναλάβετε τη δειγματοληψία 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 Συνιστάται, επομένως, να προσδιορίζεται επίσης το επίπεδο IgM με τη χρήση του kit Mycoplasma IgM (κωδ. 81035). Εναλλακτικά, ένα δεύτερο δείγμα που θα ληφθεί 8-14 ημέρες αργότερα θα αναλυθεί για πιθανή αύξηση της IgG.

Το αποτέλεσμα της δοκιμής πρέπει σε κάθε περίπτωση να αξιολογείται σε συνδυασμό με δεδομένα από το ιστορικό του ασθενούς ή/και άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος βαθμονόμησης 0-100.0 AU/ml.

Για δείγματα > 100.0 AU/ml επαναλάβετε τη δοκιμή αραιώνοντας προηγουμένως το δείγμα σε Αρνητικό

Μάρτυρα/Αραιωτικό δείγματος (PF83607- δεν παρέχεται με το kit).

13. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ

Η παρουσία στα δείγματα ορού δυνητικά παρεμβαλλόμενων παραγόντων, όπως: PCR, Χολερυθρίνη, Ρευματοειδής Παράγοντας, Αιμόλυση και Τριγλυκερίδια δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα του τεστ.

14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Αναλύθηκαν 61 δείγματα, εκ των οποίων 42 ήταν θετικά και 19 αρνητικά με το kit Chorus σε σύγκριση με ένα άλλο kit που διατίθεται στο εμπόριο. Τα μη συμφωνούντα αποτελέσματα αναλύθηκαν με το Western Blot ως αναφορά. Τα δείγματα με αμφίβολα αποτελέσματα θεωρήθηκαν θετικά. Το kit Diesse έδωσε 2 ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	40	2	42
	-	0	19	19
	Σύνολο	40	21	61

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

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

Θετική προγνωστική αξία (PPV): = 95,2 CI_{95%}: 89.9 – 100.0

Αρνητική προγνωστική αξία (NPV): = 100,0 CI_{95%}: 100.0–100.0

15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Πίνακας 1. Ακρίβεια εντός αναλυτικού κύκλου

	Αριθμός επαναληψεων	Μέση τιμή (AU/ml)	D.S.	CV%
Παρτίδα αρ. 475	9	61.0	2.80	4.6
Παρτίδα αρ. 459	9	45.3	4.90	10.8
Παρτίδα αρ. 504	9	37.4	4.84	12.9

Πίνακας 2. Ακρίβεια μεταξύ αναλυτικών κύκλων και μεταξύ παρτίδων

Δείγμα	Μέση τιμή (AU/ml)			Μέση τιμή	D. S.	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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. ΑΝΑΦΟΡΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ

Εάν έχει συμβεί σοβαρό περιστατικό σε σχέση με τη συσκευή αυτή στην επικράτεια της Ευρωπαϊκής Ένωσης, παρακαλείστε να το αναφέρετε χωρίς καθυστέρηση στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους σας.

18. ΣΥΝΟΨΗ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΟΣΕΩΝ

Το έγγραφο αυτό, το οποίο θα είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED (όταν αυτή εφαρμοστεί και λειτουργήσει πλήρως), αποτελεί μέρος της τεχνικής τεκμηρίωσης και μπορεί να ζητηθεί από τον κατασκευαστή.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

1. USO PREVISTO

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) es un kit inmunológico para la determinación semicuantitativa automatizada de anticuerpos IgG contra Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae es el agente etiológico más común causante de neumonía adquirida en la comunidad. La IgG aparece después de la IgM y la IgA y suele alcanzar su máximo durante la 5ª semana, por lo que el kit se utiliza como ayuda en el diagnóstico de la infección por neumonía. La prueba, realizada en suero humano mediante un dispositivo desechable acoplado a los instrumentos CHORUS y CHORUS TRIO, sólo debe ser utilizada por personal de laboratorio profesional.

2. INTRODUCCIÓN

Mycoplasma pneumoniae es el agente etiológico más frecuente de la neumonía adquirida en la comunidad, especialmente en el grupo de edad de 5 a 30 años; puede ser responsable de epidemias que se desarrollan lentamente, ya que el periodo de incubación varía de 10 a 14 días y el contagio implica contactos estrechos o grupos segregados (escuelas, cuarteles, hogares). La neumonía por Mycoplasma también se denomina neumonía atípica primaria o neumonía por agente de Eaton.

M. pneumoniae ataca y destruye las células epiteliales ciliadas de la mucosa de las vías respiratorias. Microscópicamente, provoca neumonía intersticial, bronquitis y bronquiolitis.

En los casos de neumonía, dada la recurrencia de los síntomas para diversos agentes etiológicos, son necesarios medios de diagnóstico adicionales, como las pruebas serológicas, para el diagnóstico de la infección aguda.

La respuesta inmunitaria tras la infección por Mycoplasma pneumoniae parece estar relacionada con el tipo de infección en sí: los anticuerpos de clase IgM están presentes con mayor frecuencia en los casos de infección primaria, como demuestra su aparición en pacientes más jóvenes. En los pacientes de más edad y en los que tienen más probabilidades de reinfectarse, la IgM es baja o indetectable; en cambio, la IgA es el marcador de mayor sensibilidad en las infecciones en curso, las reinfecciones o las infecciones recientes.

Los anticuerpos específicos de clase A aparecen precozmente, al inicio de la enfermedad, y alcanzan títulos elevados en las primeras 4 semanas, decayendo después bruscamente ante las IgG, lo que permite diagnosticar la

infección aguda incluso con una sola muestra de sangre. La IgG aparece después de la IgM y la IgA, alcanzando su máximo por término medio en la 5ª semana. Un título elevado, acompañado de un aumento significativo entre dos muestreos con un intervalo aproximado de dos semanas, confirma la presencia de una infección en curso.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

La prueba se basa en el principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

El antígeno de Mycoplasma, sonificado y solubilizado, se une a la fase sólida. Las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno tras la incubación con suero humano diluido. Tras el lavado para eliminar las proteínas que no han reaccionado, se realiza la incubación con el conjugado consistente en anticuerpos monoclonales anti-IgG humanos conjugados con peroxidasa de rábano picante. Se elimina el conjugado no unido y se añade el sustrato para la peroxidasa.

El color azul que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en el suero de la prueba.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se aplican a los instrumentos Chorus/Chorus TRIO. El resultado se expresa en AU/ml calculado con referencia a una curva estándar interna.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido analizados y han resultado negativos tanto para el HBsAg como para los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC. Dado que ninguna prueba de diagnóstico puede ofrecer una garantía total de ausencia de agentes infecciosos, todo material de origen humano debe considerarse potencialmente infectado. Todos los reactivos y muestras deben manipularse de acuerdo con las normas de seguridad normalmente adoptadas en el laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras usadas deben tratarse como residuos infectados y eliminarse de acuerdo con las disposiciones vigentes de la ley.

Advertencias de seguridad personal

1. No pipetear con la boca.
2. Utilizar guantes desechables y protección ocular al manipular las muestras y durante la prueba.
3. Lavarse bien las manos una vez finalizada la prueba.
4. En cuanto a las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consulte la ficha de datos de seguridad (disponible en el sitio web de DIESSE: www.diesse.it).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos deben desinfectarse añadiendo hipoclorito sódico en volumen suficiente para alcanzar una concentración final de al menos el 1%. Una exposición al 1% de hipoclorito sódico durante 30 minutos debería ser suficiente para garantizar una desinfección eficaz.

6. Cualquier derrame de materiales potencialmente infectados debe retirarse inmediatamente con papel absorbente y la zona contaminada debe descontaminarse, por ejemplo con hipoclorito sódico al 1%, antes de continuar el trabajo. Si hay un ácido presente, no debe utilizarse hipoclorito sódico hasta que la zona se haya secado.

Todos los materiales utilizados para descontaminar derrames accidentales, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos potencialmente infecciosos. No esterilizar en autoclave materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias analíticas

Ponga los dispositivos que vaya a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) durante al menos 30 minutos, y utilícelos antes de 60 minutos.

1. Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) coloreado de azul.

2. Al añadir la muestra al pocillo, compruebe que esté perfectamente distribuida en el fondo.
3. Compruebe la presencia real de los reactivos en el dispositivo y la integridad del propio dispositivo; no utilice dispositivos que en una inspección visual muestren falta de reactivos.
4. Los dispositivos deben utilizarse junto con el instrumento Chorus, siguiendo estrictamente las instrucciones de uso y el manual del instrumento.

El uso del kit sólo es posible con una versión de software actualizada. Asegúrese de que el software instalado en el instrumento coincide o tiene una versión (Rel.) superior a la de la tabla publicada en el sitio web de Diesse.

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

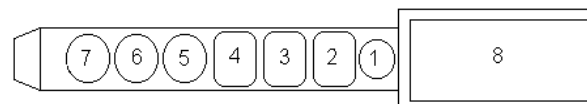
5. Compruebe que el aparato Chorus esté correctamente configurado (véase el manual del usuario Chorus).
6. No altere el código de barras del mango del aparato para que éste pueda leerse correctamente.
7. Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos pueden introducirse manualmente en el instrumento.
9. No exponga los aparatos a una luz intensa ni a vapores de hipoclorito durante su almacenamiento y uso.
10. No utilizar muestras hemolizadas, lipémicas, ictericas con una concentración de interferentes superior a la analizada (según las indicaciones del capítulo "Especificidad analítica").
11. No utilice el aparato después de la fecha de caducidad.
12. Compruebe que el instrumento dispone de una conexión con el Tampón de Lavado (Ref. 83606)

5. COMPOSICIÓN DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El kit es suficiente para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 paquetes de 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta de código de barras

Posición 7: vacío

Posición 6: Sensibilizado con antígeno de *Mycoplasma pneumoniae*: concentración máxima 2,51 µg/ml

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina 0,26 mg/mL y H₂O₂ 0,01% estabilizado en tampón citrato 0,05 mol/L (pH 3,8).

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución proteica, que contiene fenol 0,05%, Bronidox 0,02% y un indicador para detectar la presencia de suero.

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgG humanos marcados con peroxidasa (concentración máxima 1,5 µg/ml) en solución amortiguadora de fosfato que contiene 0,05% de fenol y Bronidox 0,02%.

Posición 1: POCILLO VACÍO donde el usuario debe dispensar el suero sin diluir.

Utilización: equilibrar un sobre a temperatura ambiente, abrir el sobre, sacar los dispositivos necesarios; introducir los demás en el sobre que contiene el gel de sílice, dejar salir el aire y sellar presionando sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,425 ml

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

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,425 ml

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

La fiabilidad de las mediciones del calibrador y del control positivo está garantizada por la cadena de trazabilidad descrita a continuación.

El calibrador y el control positivo se producen a partir de una muestra humana con una concentración conocida de antígenos diluida para alcanzar una concentración específica, cuyo rango depende del lote y se asigna durante la fase de liberación del control de calidad utilizando una serie de calibradores secundarios ("calibradores de trabajo"). Los calibradores de trabajo se preparan y caracterizan según un panel de sueros humanos de referencia con diferentes niveles de antígenos.

OTRO MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO.

- TAMPÓN DE LAVADO **REF** 83606
- SOLUCIÓN LIMPIADORA 2000 **REF** 83609
- SOLUCIÓN DESINFECTANTE **REF** 83604 - 83608
- CHORUS CONTROL NEGATIVO/ DILUYENTE DE MUESTRAS **REF** 83607
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada

- Material de vidrio normal de laboratorio: cilindros, probetas, etc.
- Micropipetas capaces de tomar con precisión volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito sódico al 5%
- Contenedores para la recogida de materiales potencialmente infectados

6. MODO DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8°C. En caso de que la temperatura de almacenamiento sea incorrecta, deberá repetirse el calibrado y comprobar el resultado con el suero de control (véase el capítulo 9 validación de la prueba).

La fecha de caducidad está impresa en cada componente y en la etiqueta exterior del envase.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada tras su apertura y/o preparación:

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

7. TIPO DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

La muestra es suero obtenido de sangre extraída por venopunción y manipulado según los procedimientos estándar de laboratorio.

Según la directriz H18-A3 del CLSI, las muestras de suero para análisis deben coagularse antes de la centrifugación; la coagulación espontánea y completa se produce normalmente en 30-60 minutos a 22°C-25°C. Se recomienda separar físicamente el suero, por centrifugación, del contacto celular lo antes posible con un plazo máximo de 2 horas desde el momento de la recogida.

El suero fresco puede conservarse durante 4 días a 2/8°C; para periodos de almacenamiento más largos, congélalo a temperaturas de ≤ -20°C por un periodo no superior a 47 meses.

Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras. La muestra puede someterse a un máximo de 3 descongelaciones. Tras la descongelación, agite cuidadosamente antes de la dosificación. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, lo que puede dar lugar a resultados erróneos.

No deben utilizarse muestras fuertemente lipémicas, ictericas, hemolizadas o contaminadas.

La prueba no es aplicable al plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abra el sobre (lado que contiene el sello de presión), saque el número de dispositivos necesarios para realizar los exámenes y conserve los demás cerrando de nuevo el sobre tras dejar salir el aire.
2. Compruebe visualmente el estado del aparato según las instrucciones del capítulo 6 Advertencias analíticas, puntos 1 y 8.

3. Dispense 50 µl de suero no diluido a analizar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo, en cada cambio de lote utilice un dispositivo calibrador.

4. Coloque los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO. Realice la calibración (si es necesario) y la prueba tal como se indica en el Manual de instrucciones del instrumento.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBAS

Utilice el suero de control para verificar la veracidad del resultado obtenido procesándolo como se indica en el manual de uso del instrumento. Si el instrumento indica que el suero de control tiene un valor fuera del rango aceptable, debe realizarse de nuevo la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo sigue estando fuera del intervalo aceptable, póngase en contacto con el Servicio de Asistencia Científica.

Tel: 0039 0577 319554
correo: scientificsupport@diesse.it
electrónico:

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El instrumento Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado semicuantitativo en AU/ml, mediante una curva (dependiente del lote) almacenada por el instrumento.

El grado de inmunidad del suero de prueba puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es > 18 AU/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es < 12 AU/ml

DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando el resultado está entre 12-18 AU/ml

Título	Interpretación de los resultados		Resultado CHORUS
> 40 AU/mL	Título superior	Título compatible con infección actual o reciente por <i>M.pneumoniae</i>	P
≤ 40 AU/ml >18 AU/ml	Título moderado	La interpretación sólo puede hacerse tras otro muestreo 8-15 días después.	P
≤ 18 AU/ml ≥12 AU/ml	Título bajo		D/E
< 12 AU/ml	Título no significativo		N

El instrumento señala > cuando la AU/ml es superior a 100 AU/ml; en este caso diluya la muestra con Diluyente de Muestra/Control Negativo [REF] 83607 (p.ej. 1 :3) y repita la prueba. El resultado debe multiplicarse por la dilución utilizada.

En caso de resultado dudoso/equívoco, repita la prueba. Si el resultado sigue siendo dudoso/inequívoco, repita el muestreo.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

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

Los sueros tomados durante la fase aguda de la infección sólo pueden ser positivos para anticuerpos de la clase IgM. Por lo tanto, se recomienda determinar también el nivel de IgM utilizando el kit Mycoplasma IgM (ref 81035). Alternativamente, se analizará una segunda muestra tomada entre 8 y 14 días después para detectar un posible aumento de IgG.

El resultado de la prueba debe evaluarse junto con los datos de la historia clínica del paciente y/u otras investigaciones diagnósticas.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 0-100,0 AU/ml.

Para muestras > 100,0 AU/ml, repita la prueba diluyendo la muestra con Control Negativo/Diluyente de Muestra (PF83607 - no suministrado con el kit).

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

La presencia de posibles interferentes como PCR, Bilirrubina, Factor Reumatoide, Hemólisis y Triglicéridos en la muestra no influye en el resultado de la prueba.

14. ESTUDIOS COMPARATIVOS

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

Los resultados se resumen en el cuadro siguiente:

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

Sensibilidad 100,0 % CI_{95%}: 91,2 a 100,0

Especificidad 90,5 % CI_{95%}: 71,1 a 97,3

Valor predictivo positivo (VPP): = 95,2 CI_{95%}: 89,9 -100,0

Valor predictivo negativo (VPN): = 100,0 CI_{95%}: 100,0–100,0

15. PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

Cuadro 1. Precisión en la sesión

	Número de replicas	Media AU/ml	D.S.	CV%
N.º lote 475	9	61,0	2,80	4,6
N.º lote 459	9	45,3	4,90	10,8

N.º lote 504	9	37,4	4,84	12,9
--------------	---	------	------	------

Tabla 2. Precisión entre sesiones y entre lotes

Muestra	Media AU/ml			Media	D. S.	CV%
	Lote 475	Lote 459	Lote 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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES

Si se ha producido un incidente grave relacionado con este aparato en el territorio comercial de la Unión Europea, notifíquelo sin demora al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

18. RESUMEN DE SEGURIDAD Y RENDIMIENTO

Este documento, que estará disponible en la base de datos EUDAMED (cuando esté plenamente implantado y en funcionamiento), forma parte de la Documentación Técnica y puede solicitarse al fabricante.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO PREVISTA

O CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) é um kit imunológico para a determinação automatizada semi-quantitativa de anticorpos IgG contra Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae é o agente etiológico mais comum que causa pneumonia adquirida em ambientes comunitários. A IgG surge depois da IgM e da IgA e atinge geralmente o seu pico durante a 5ª semana, pelo que o kit é utilizado como auxiliar no diagnóstico da infecção por pneumonia.

O teste, efetuado em soro humano utilizando um dispositivo descartável ligado aos instrumentos CHORUS e CHORUS TRIO, só deve ser utilizado por pessoal de laboratório profissional.

2. INTRODUÇÃO

Mycoplasma pneumoniae é o agente etiológico mais comum de pneumonia adquirida na comunidade, especialmente no grupo etário dos 5 aos 30 anos; pode ser responsável por epidemias que se desenvolvem lentamente, uma vez que o período de incubação varia de 10 a 14 dias e o contágio envolve contactos próximos ou grupos segregados (escolas, quartéis, agregados familiares). A pneumonia por Mycoplasma é também designada por pneumonia atípica primária ou pneumonia por agente de Eaton.

M. pneumoniae ataca e destrói as células epiteliais ciliadas da mucosa do trato respiratório. Microscopicamente, provoca pneumonia intersticial, bronquite e bronquiolite.

Em casos de pneumonia, dada a recorrência de sintomas para vários agentes etiológicos, são necessários meios de diagnóstico adicionais, como testes serológicos, para o diagnóstico de infecção aguda.

A resposta imunitária após a infecção por Mycoplasma pneumoniae parece estar relacionada com o tipo de infecção em si: os anticorpos da classe IgM estão presentes mais frequentemente em casos de infecção primária, como evidenciado pela sua ocorrência em doentes mais jovens. Nos doentes mais velhos e nos que têm maior probabilidade de serem reinfetados, a IgM é baixa ou indetetável; em contrapartida, a IgA é o marcador de maior sensibilidade nas infecções em curso, nas reinfecções ou nas infecções recentes. Os anticorpos específicos da classe A aparecem precocemente, no início da doença, e atingem títulos elevados nas primeiras 4 semanas, decaindo depois abruptamente antes da IgG, o que permite o diagnóstico da infecção aguda mesmo com uma única amostra de sangue. As IgG aparecem depois das IgM e IgA, em média atingem o

pico máximo na 5ª semana. Um título elevado, acompanhado de um aumento significativo entre duas colheitas com cerca de 2 semanas de intervalo, confirma a presença de uma infecção em curso.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

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

O antígeno de Mycoplasma sonificado e solubilizado é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno após incubação com soro humano diluído. Após lavagem para remover as proteínas que não reagiram, procede-se à incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti-IgG humanos conjugados com peroxidase de rábano. O conjugado não ligado é removido e é adicionado o substrato para a peroxidase.

A cor azul que se desenvolve é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro de teste.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos Chorus/Chorus TRIO. O resultado é expresso em AU/ml calculado com referência a uma curva de padrão interno.

4. PRECAUÇÕES

APENAS PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e considerados negativos para o HBsAg e para os anticorpos anti-HIV-1, anti-HIV-2 e anti-HCV. Uma vez que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer uma garantia completa da ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infetado. Todos os reagentes e amostras devem ser manuseados de acordo com as regras de segurança normalmente adotadas no laboratório.

Eliminação de resíduos: as amostras de soro, os calibradores e as tiras usados devem ser tratados como resíduos infetados e depois eliminados de acordo com a regulamentação.

Avisos de segurança pessoal

1. Não pipetar com a boca.
2. Utilizar luvas descartáveis e proteção ocular ao manusear as amostras e durante o teste.
3. Lavar bem as mãos depois de terminado o teste.
4. Relativamente às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Dados de Segurança (disponível no sítio Web da DIESSE: www.diesse.it).
5. Os ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados por adição de hipoclorito de sódio em volume suficiente para se obter uma concentração final de, pelo menos, 1%. Uma exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deve ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Qualquer derrame de materiais potencialmente infetados deve ser imediatamente removido com papel

absorvente e a área contaminada deve ser descontaminada, por exemplo, com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não deve ser utilizado até que a área tenha sido seca.

Todos os materiais utilizados para descontaminar derrames acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infecciosos. Não autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Avisos analíticos

Antes de utilizar, colocar os dispositivos à temperatura ambiente (18-30°C) durante, pelo menos, 30 minutos e utilizar no prazo de 60 minutos.

1. Rejeitar os dispositivos com substrato (compartimento 4) de cor azul.

2. Ao adicionar a amostra ao compartimento, verificar se está perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença real dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que revelem a falta de algum reagente numa inspeção visual.
4. Os dispositivos devem ser utilizados em conjunto com o instrumento Chorus, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.

A utilização do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou tem uma versão (Rel.) superior à tabela publicada no sítio Web da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

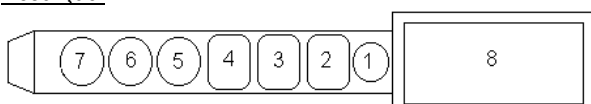
5. Verifique em se o instrumento Chorus está corretamente configurado (consulte o Manual do Chorus).
6. Não alterar o código de barras do punho do dispositivo para permitir a sua leitura correta pelo aparelho.
7. Evitar a utilização de congeladores de auto-descongelamento para o armazenamento de amostras.
8. Os códigos de barras defeituosos podem ser introduzidos manualmente no instrumento.
9. Não expor os dispositivos a luz intensa ou a vapores de hipoclorito durante o armazenamento e a utilização.
10. Não utilizar amostras hemolisadas, lipêmicas ou ictericas com uma concentração de interferentes superior à testada (de acordo com as indicações do capítulo "Especificidade analítica").
11. Não utilizar o aparelho após o prazo de validade
12. Verificar se o instrumento tem uma ligação ao Washing Buffer (Ref. 83606)

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para a etiqueta de código de barras

Posição 7: vazia

posição 6: Sensibilizado com antígeno de Mycoplasma pneumoniae: concentração máxima 2,51 µg/ml

Posição 5: COMPARTIMENTO DE MICROPLACA não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0,26 mg/mL e H₂O₂ 0,01% estabilizados em tampão citrato 0,05 mol/L (pH 3,8)

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica, contendo fenol a 0,05%, Bronidox a 0,02% e um indicador para detetar a presença de soro.

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgG humanos marcados com peroxidase (concentração máxima de 1.5 µg/ml) em solução tampão fosfato contendo 0,05% de fenol e Bronidox 0,02%.

Posição 1: COMPARTIMENTO VAZIO onde o utilizador deve dispensar o soro não diluído.

Utilização: equilibrar um envelope à temperatura ambiente, abrir o envelope, retirar os dispositivos necessários; colocar os outros no envelope que contém o gel de sílica, deixar sair o ar e **selar** pressionando o fecho. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,425 ml

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

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,425 mL

Conteúdo: Soro humano diluído, concentração conhecida de anticorpos com Proclin e Gentamicina, líquido, pronto a usar. A fiabilidade das medições do Calibrador e do Controlo Positivo é garantida pela cadeia de rastreabilidade descrita a seguir.

O Calibrador e o Controlo Positivo são produzidos a partir de uma amostra humana com uma concentração conhecida de antígenos diluída para uma concentração específica, cujo intervalo depende do lote e é atribuída durante a fase de libertação do controlo de qualidade utilizando uma série de calibradores secundários ("Working calibrator").

Os "Working calibrator" são preparados e caracterizados de acordo com um painel de soros humanos de referência com diferentes níveis de antígeno.

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumento Chorus/Chorus TRI0
- Água destilada ou desionizada
- Material de vidro normal de laboratório: cilindros, tubos de ensaio, etc.
- Micropipetas capazes de recolher com exatidão volumes de 50-200 µl
- Luvas descartáveis

- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Contentores para a recolha de materiais potencialmente infetados

6. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser armazenados a 2/8°C. No caso de uma temperatura de armazenamento incorreta, a calibração deve ser repetida e a exatidão do resultado deve ser verificada com o soro de controlo (ver Capítulo 9 validação do teste).

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

Os reagentes têm uma estabilidade limitada após a abertura e/ou preparação:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8°C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E ARMAZENAMENTO

A amostra é o soro obtido a partir de sangue colhido por punção venosa e manipulado de acordo com os procedimentos laboratoriais habituais.

De acordo com a diretriz H18-A3 do CLSI, as amostras de soro para análise devem ser coaguladas antes da centrifugação; a coagulação espontânea e completa ocorre normalmente em 30-60 minutos a 22°C-25°C. Recomenda-se a separação física do soro, por centrifugação, do contacto com as células o mais rapidamente possível, com um limite máximo de 2 horas a partir do momento da colheita.

O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias a 2/8°C; para períodos de armazenamento mais longos, congelar a temperaturas ≤-20°C durante pelo menos 47 meses.

Evitar a utilização de congeladores de auto-descongelamento para o armazenamento de amostras. A amostra pode ser submetida a um máximo de 3 descongelações. Após a descongelamento, agitar cuidadosamente antes de dosear. A qualidade da amostra pode ser seriamente afetada pela contaminação microbiana, o que pode levar a resultados errados.

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

O teste não é aplicável ao plasma humano.

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o envelope (lado que contém o selo de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para efetuar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o envelope depois de deixar sair o ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo de acordo com as instruções do capítulo 6 Avisos analíticos pontos 1 e 8.
3. Distribuir 50 µl de soro não diluído a analisar no compartimento n.º 1 de cada dispositivo; em cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se

necessário) e o teste de acordo com o Manual de Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo para verificar a exatidão do resultado obtido, processando-o conforme indicado no manual do aparelho. Se o instrumento indicar que o soro de controlo tem um valor fora da faixa aceitável, a calibração deve ser efetuada novamente. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controlo continuar a estar fora do intervalo aceitável, contactar o Apoio Científico.

Tel: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado semi-quantitativo em AU/ml, através de uma curva (dependente do lote) armazenada pelo instrumento.

O grau de imunidade do soro de teste pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for > 18 UI/mL

NEGATIVO: quando o resultado for < 12 UI/mL

DUVIDOSO/EQUÍVOCO: quando o resultado se situa entre 12-18 AU/mL

Título	Interpretação dos resultados		Resultado CHORUS
> 40 AU/mL	Título alto	Título compatível com infeção atual ou recente por <i>M. pneumoniae</i>	P
≤ 40 AU/mL >18 AU/mL	Título moderado	A interpretação só pode ser efetuada após uma nova amostragem 8-15 dias mais tarde.	P
≤ 18 AU/mL ≥12 AU/mL	Título baixo		D/E
< 12 AU/mL	Título não significativo		N

O instrumento sinaliza > quando o AU/mL é superior a 100 AU/mL; neste caso, diluir a amostra com Diluente de Amostra/Controlo Negativo REF 83607 (por exemplo 1 :3) e repetir o teste. O resultado deve ser multiplicado pela diluição utilizada.

Em caso de resultado duvidoso ou equívoco, repetir o teste. Se o resultado continuar a ser duvidoso/equívoco, repetir a amostragem.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Um resultado negativo não exclui uma infeção por *Mycoplasma*: em caso de suspeita clínica, repetir o teste 15 dias mais tarde.

Os soros colhidos durante a fase aguda da infecção só podem ser positivos para anticorpos da classe IgM. Por conseguinte, recomenda-se que se determine também o nível de IgM utilizando o kit Mycoplasma IgM (ref. 81035). Em alternativa, uma segunda amostra colhida 8-14 dias mais tarde será analisada para detetar um possível aumento de IgG.

O resultado do teste deve ser avaliado em conjunto com os dados da história clínica do doente e/ou de outros exames de diagnóstico.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 0-100,0 AU/ml.

Para amostras > 100,0 AU/ml, repetir o teste diluindo previamente a amostra em Controlo Negativo/Diluyente de Amostra (PF83607- não fornecido com o kit).

13. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

A presença de potenciais interferentes na amostra, tais como PCR, bilirrubina, fator reumatoide, hemólise e triglicéridos, não influencia o resultado do teste.

14. ESTUDOS COMPARATIVOS

Foram analisadas 61 amostras, das quais 42 foram positivas e 19 negativas com o kit Chorus em comparação com outro kit disponível no mercado. Os resultados discordantes foram analisados com Western Blot considerado como referência. As amostras duvidosas foram consideradas positivas. O kit Diesse deu 2 resultados falsos positivos.

Os resultados são resumidos no quadro seguinte:

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

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

Especificidades 90.5 % CI_{95%}: 71.1 a 97.3

Valor preditivo positivo (PPV): = 95,2 CI_{95%}: 89.9 – 100.0

Valor Preditivo Negativo (NPV): = 100,0 CI_{95%}: 100.0– 100.0

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Tabela 1. Precisão na sessão

	Número de réplicas	Média (AU/ml)	D.S.	CV%
Lote nº 475	9	61.0	2.80	4.6
Lote nº 459	9	45.3	4.90	10.8
Lote nº 504	9	37.4	4.84	12.9

Tabela 2. Precisão entre sessões e entre lotes

Amostra	Média (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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. COMUNICAÇÃO DE ACIDENTES

Se tiver ocorrido um acidente grave relacionado com este dispositivo no território de mercado da União Europeia, comunique-o imediatamente ao fabricante e à autoridade competente do seu Estado-Membro.

18. RESUMO DA SEGURANÇA E DO DESEMPENHO

Este documento, que será disponibilizado na base de dados EUDAMED (quando estiver totalmente implementado e a funcionar), faz parte da documentação técnica e pode ser solicitado ao fabricante.



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZAREA PREVĂZUTĂ

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) este un kit imunologic pentru determinarea automată semicantitativă a anticorpilor IgG împotriva Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae este cel mai frecvent agent etiologic care cauzează pneumonia dobândită în comunitate. IgG apare după IgM și IgA și, în general, atinge vârful în a 5-a săptămână, astfel încât kitul este utilizat ca ajutor în diagnosticarea infecției cu pneumonie.

Testul, efectuat pe ser uman cu ajutorul unui dispozitiv de unică folosință atașat la instrumentele CHORUS și CHORUS TRIO, ar trebui să fie utilizat numai de personalul profesionist de laborator.

2. INTRODUCERE

Mycoplasma pneumoniae este cel mai frecvent agent etiologic al pneumoniilor dobândite în comunitate, în special la grupa de vârstă cuprinsă între 5 și 30 de ani; poate fi responsabil de epidemii cu evoluție lentă, deoarece perioada de incubație variază între 10 și 14 zile, iar contagiunea implică contacte apropiate sau grupuri segregate (școli, unități militare, gospodării). Pneumonia cu Mycoplasma se mai numește și pneumonie atipică primară sau pneumonie cu agent Eaton.

M. pneumoniae atacă și distruge celulele epiteliale ciliate ale mucoasei tractului respirator. Din punct de vedere microscopic, provoacă pneumonie interstițială, bronșită și bronșiolită.

În cazurile de pneumonie, având în vedere recurența simptomelor pentru diverși agenți etiologici, sunt necesare mijloace de diagnostic suplimentare, cum ar fi testele serologice, pentru diagnosticarea infecției acute.

Răspunsul imun după infecția cu Mycoplasma pneumoniae pare să fie legat de tipul de infecție în sine: anticorpilor de clasă IgM sunt prezenți mai frecvent în cazurile de infecție primară, după cum o demonstrează apariția lor la pacienții mai tineri. La pacienții mai în vârstă, cu o probabilitate mai mare de reinfectare, IgM este scăzut sau nedetectabil; în schimb, IgA este markerul cu cea mai mare sensibilitate în cazul infecțiilor în curs, al reinfecțiilor sau al infecțiilor recente.

Anticorpilor specifici de clasă A apar precoce, la debutul bolii și ating titluri ridicate în primele 4 săptămâni, apoi scad brusc în fața IgG, permițând diagnosticarea infecției acute chiar și cu o singură recoltare. IgG apare după IgM și IgA, atingând în medie vârful în săptămâna 5. Un titlu ridicat, însoțit de o creștere semnificativă între două recoltări la aproximativ

două săptămâni distanță, confirmă prezența unei infecții în curs.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul se bazează pe principiul ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Antigenul Mycoplasma sonicat și solubilizat este legat de faza solidă. Prin incubare cu ser uman diluat, imunoglobulinele specifice se leagă de antigen. După spălare, pentru a îndepărta proteinele care nu au reacționat, se efectuează incubarea cu conjugatul constând din anticorpi monoclonali IgG umani conjugați cu peroxidază de hrean. Conjugatul nelegat este îndepărtat și se adaugă substratul pentru peroxidază.

Culoarea albastră care se dezvoltă este proporțională cu concentrația de anticorpi specifici prezenți în serul examinat. Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului atunci când sunt aplicate la instrumentele Chorus/Chorus TRIO. Rezultatul este exprimat în UA/ml, calculat în raport cu o curbă standard internă.

4. PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO.

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și s-au dovedit negative pentru prezența HBsAg și pentru prezența anticorpilor împotriva HIV-1, HIV-2 și HCV. Deoarece niciun test de diagnostic nu poate oferi o asigurare completă privind lipsa agenților infecțioși, orice material de origine umană ar trebui considerat ca fiind potențial infectat. Toți reactivii și toate probele trebuie manipulate în conformitate cu normele în materie de siguranță adoptate în mod normal în laborator.

Eliminarea reziduurilor: probele de ser, calibratoarele și benzile folosite trebuie tratate ca reziduuri contaminate și prin urmare, trebuie eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați probele și în timpul testului.
3. Spălați-vă bine pe mâini după terminarea testului.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibilă pe site-ul DIESSE: www.diesse.it)
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu într-un volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la hipoclorit de sodiu 1% timp de 30 de minute ar trebui să fie suficientă pentru a asigura o dezinfecție eficientă.
6. Orice scurgeri de materiale potențial infectat trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă este prezent un acid, hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat până când zona nu a fost uscată.

Toate materialele utilizate pentru decontaminarea eventualelor scurgeri accidentale, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase. Nu introduceți în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, aduceți dispozitivele care urmează să fie utilizate la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 30 de minute și utilizați-le în interval de 60 de minute.

1. Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 4) colorat în albastru.

2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză; nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul Chorus, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul instrumentului.

Utilizarea kitului este posibilă numai cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument coincide sau are o Versiune (Ver.) mai recentă decât cea prezentată în tabelul publicat pe site-ul Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

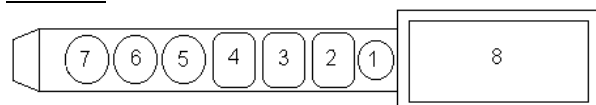
5. Verificați dacă instrumentul Chorus este setat corect (vezi Manualul de utilizare Chorus).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului, pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
8. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument.
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. A nu se utiliza probe hemolizate, lipemice, icterice cu o concentrație de interferenți mai mare decât cea testată (conform indicațiilor furnizate în capitolul „Specificitatea analitică”).
11. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
12. **Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare (Ref. 83606)**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări.

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 8: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 7: goală

Poziția 6: Sensibilizat cu antigenul Mycoplasma pneumoniae: concentrație maximă 2,51 µg/ml

Poziția 5: GODEU DE MICROPLACĂ nesensibilizat.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidină 0,26 mg/mL și H₂O₂ 0,01 % stabilizate în tampon citrat 0,05 mol/L (pH 3,8)

Poziția 3: DILUANT PENTRU PROBE

Conținut: Soluție proteică, care conține 0,05% fenol, 0,02% Bronidox și un indicator al prezenței serului.

Poziția 2: CONJUGAT

Conține: anticorpi monoclonali anti-IgG umani marcați cu peroxidază (concentrație maximă 1,5 µg/ml) în soluție tamponată cu fosfat care conține 0,05% fenol și Bronidox 0,02%.

Poziția 1: GODEU GOL în care utilizatorul trebuie să distribuie serul nediluat.

Utilizare: echilibrați o pungă la temperatura camerei, deschideți punga și scoateți dispozitivele necesare; introduceți-le pe celelalte la loc în punga care conține silicagel, lăsați aerul să iasă și **sigilați** apăsând pe închidere. A se păstra la 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,425 mL

Conținut: Ser uman diluat, concentrație cunoscută de anticorpi cu Proclin și Gentamicină, lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,425 mL

Conținut: Ser uman diluat, concentrație cunoscută de anticorpi cu Proclin și Gentamicină, lichid, gata de utilizare. Fiabilitatea măsurătorilor calibratorului și ale controlului pozitiv este garantată de procesul de trasabilitate descris mai jos.

Calibratorul și controlul pozitiv sunt produse pornind de la o probă umană cu concentrație cunoscută de antigene diluate pentru a atinge o concentrație specifică, al cărei interval depinde de lot și este atribuit în timpul fazei de eliberare a controlului calității, folosind o serie de calibratori secundari („calibratori de lucru”).

Calibratorii de lucru sunt pregătiți și caracterizați în funcție de un panel de seruri umane de referință cu diferite niveluri de antigen.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE.

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SOLUȚIE DE DEZINFECTARE **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumentul Chorus/Chorus TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticla normală de laborator: cilindri, eprubete etc.
- Micropipete capabile să extragă cu precizie volume de 50-200 µl.
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de hipoclorit de sodiu 5%
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate

6. METODE DE PĂSTRARE ȘI STABILITATE A REACTIVILOR

Reactivii trebuie păstrați la 2/8°C. În cazul unei temperaturi de depozitare incorectă, calibrarea trebuie

repetată și trebuie verificată corectitudinea rezultatului prin intermediul serului de control (vezi capitolul 9 validarea testului)

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta exterioară a ambalajului.

Reactivii au stabilitate limitată după deschidere și/sau preparare:

DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8°C
CALIBRATOR	8 săptămâni la 2/8°C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8°C

7. TIPUL DE PROBĂ ȘI DEPOZITARE

Proba constă în serul obținut din sângele recoltat prin puncție venoasă și manipulat în conformitate cu cerințele cuprinse în procedurile standard de laborator.

Conform ghidului CLSI H18-A3, probele de ser care urmează să fie analizate trebuie coagulate înainte de centrifugare; coagularea spontană și completă are loc în mod normal în interval de 30-60 de minute la 22°C-25°C. Se recomandă separarea fizică a serului, prin centrifugare, de contactul cu celulele cât mai curând posibil cu un timp limită de maxim 2 ore de la momentul colectării.

Serul proaspăt se poate păstra timp de 4 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați-l la temperaturi $\leq -20^{\circ}\text{C}$ pentru o perioadă care nu depășește 47 de luni.

Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor. Proba poate fi supusă unui număr maxim de 3 decongelări. După decongelare, agitați cu atenție înainte de dozare. Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate conduce la rezultate eronate.

Nu trebuie utilizate probe puternic lipemice, icterice, hemolizate sau poluate.

Testul nu este aplicabil la plasma umană.

8. PROCEDURA

1. Deschideți punga (partea care conține sigiliul de presiune), luați numărul de dispozitive necesare efectuării testelor și păstrați-le pe celelalte închizând punga la loc după eliberarea aerului.
2. Verificați vizual starea dispozitivului conform indicațiilor din capitolul 6 Avertismente analitice punctele 1 și 8.
3. Distribuți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv 50 μl de ser nediluat pentru a fi analizat; la fiecare schimbare de lot, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.
4. Introduceți dispozitivele pe instrumentul Chorus/Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesar) și testarea conform indicațiilor cuprinse în Manualul de instrucțiuni al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați serul de control pentru a verifica corectitudinea rezultatului obținut, procesându-l așa cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul semnalează că serul de control are o valoare în afara

intervalului acceptabil, este necesar să se efectueze din nou calibrarea. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

Dacă rezultatul serului de control continuă să se încadreze în afara intervalului acceptabil, contactați Serviciul de asistență științifică.

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

10. INTERPRETAREA TESTULUI

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO oferă un rezultat semicantitativ în AU/mL, prin intermediul unei curbe (în funcție de lot) memorate de instrument.

Gradul de imunitate al serului examinat poate fi interpretat după cum urmează:

POZITIV: când rezultatul este $> 18 \text{ AU/mL}$

NEGATIV: când rezultatul este $< 12 \text{ AU/mL}$

ÎNDOIELNIC/ECHIVOC: când rezultatul este cuprins între 12-18 AU/mL

Titlu	Interpretarea rezultatelor		Rezultatul CHORUS
$> 40 \text{ AU/mL}$	Titlu înalt	Titlu compatibil cu o infecție cu <i>M.pneumoniae</i> în curs sau recentă	P
$\leq 40 \text{ AU/mL}$ $> 18 \text{ AU/mL}$	Titlu moderat	Interpretarea poate fi făcută numai după o altă recoltare, după 8-15 zile.	P
$\leq 18 \text{ AU/mL}$ $\geq 12 \text{ AU/mL}$	Titlu scăzut		D/E
$< 12 \text{ AU/mL}$	Titlu nesemnificativ		N

Instrumentul semnalizează $>$ atunci când AU/mL este mai mare de 100 AU/mL; în acest caz, diluați proba cu Sample Diluent/Negative Control [REF](#) 83607 (de exemplu. 1 :3) și repetați testul. Rezultatul trebuie înmulțit cu diluția utilizată. În cazul unui rezultat îndoielnic/echivoc, repetați testul. Dacă rezultatul rămâne îndoielnic/echivoc, repetați prelevarea.

11. LIMITĂRILE TESTULUI

Un rezultat negativ nu exclude o infecție cu *Mycoplasma*: în caz de suspiciune clinică, repetați testul după 15 zile.

Serurile prelevate în timpul fazei acute a infecției pot fi pozitive doar pentru anticorpi din clasa IgM. Prin urmare, se recomandă să se determine și nivelul de IgM cu ajutorul kitului *Mycoplasma* IgM (ref. 81035). Alternativ, va fi analizată o a doua probă recoltată după 8-14 zile pentru o posibilă creștere a IgG.

Rezultatul testului trebuie evaluat în orice caz împreună cu datele obținute din istoricul pacientului și/sau din alte investigații diagnostice.

12. INTERVALUL DE CALIBRARE

Interval de calibrare 0-100,0 AU/ml.

Pentru probe >100,0 AU/ml, repetați testul diluând în prealabil proba cu Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - nu este furnizat împreună cu kitul).

13. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Prezența în probă a unor potențiali interferenți, cum ar fi PCR, bilirubina, factorul reumatoid, hemoliza și trigliceridele, nu influențează rezultatul testului.

14. STUDII COMPARATIVE

Au fost analizate 61 de probe, dintre care 42 au fost pozitive și 19 negative cu kitul Chorus în comparație cu un alt kit disponibil în comerț. Rezultatele discordante au fost analizate cu Western Blot considerat ca referință. Probele îndoelnice au fost considerate pozitive. Kitul Diesse a dat 2 rezultate fals pozitive.

Rezultatele sunt prezentate pe scurt în tabelul următor:

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

Sensibilitate 100,0 % $CI_{95\%}$: de la 91,2 la 100,0

Specificitate 90,5 % $CI_{95\%}$: de la 71,1 până la 97,3

Valoare predictivă pozitivă (PPV): = 95,2 $CI_{95\%}$: 89.9 – 100.0

Valoarea predictivă negativă (NPV): = 100,0 $CI_{95\%}$: 100.0–100.0

15. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Tabelul 1. Precizia în cadrul ședinței

	Număru l de repetări	Medie AU/ml	D.S.	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 între ședințe și între loturi

Probă	Medie AU/ml			Medie	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

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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. RAPORTAREA UN ACCIDENT

Dacă a avut loc un incident grav în legătură cu acest dispozitiv pe teritoriul pieței Uniunii Europene, vă rugăm să îl raportați fără întârziere producătorului și autorității competente din Statul dumneavoastră membru.

18. REZUMAT PRIVIND SIGURANȚA ȘI PERFORMANȚA

Acest document, care va fi pus la dispoziție în baza de date EUDAMED (atunci când va fi complet implementat și funcțional), face parte din documentația tehnică și poate fi solicitat de la producător.



UPUTE ZA UPORABU

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu

1. NAMJENA

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) je imunološki komplet za automatizirano polukvantitativno određivanje IgG protutijela protiv Mycoplasma pneumoniae. Mycoplasma Pneumoniae najčešći je etiološki uzročnik koji uzrokuje upalu pluća stečenu u zajednici. IgG se pojavljuje nakon IgM-a i IgA-a i općenito doseže vrhunac tijekom 5. tjedna, pa se komplet koristi za dijagnosticiranje infekcije upalom pluća.

Test, koji se provodi na ljudskom serumu pomoću jednokratnog uređaja primijenjenog na instrumente CHORUS i CHORUS TRIO, smije koristiti samo stručno laboratorijsko osoblje.

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 treptiljkama 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 mladih 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 pojavljuje 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 reagensse za izvođenje testa kada se primjenjuju na Instrumente Chorus/Chorus TRIO. Rezultat je izražen u AU/ml izračunat upućivanjem na unutarnju standardnu krivulju.

4. MJERE OPREZA

SAMO ZA IN VITRO DIJAGNOSTIČKU UPORABU.

Ovaj komplet sadrži materijale ljudskog podrijetla koji su testirani i utvrđeni negativni 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 tvari, 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, kalibrator 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.
 2. Prilikom rukovanja uzorcima i tijekom testiranja koristite jednokratne rukavice i zaštitu za oči.
 3. Temeljito operite ruke nakon završetka testiranja.
 4. Što se tiče sigurnosnih značajki reagensa sadržanih u kompletu, pogledajte sigurnosno-tehničke listove (dostupne na internetskoj stranici tvrtke DIESSE: www.diesse.it).
 5. 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 trebala bi biti dovoljna kako bi se osigurala učinkovita dezinfekcija.
 6. Svako izlivanje potencijalno zaraženog materijala mora se odmah ukloniti upijajućim papirom, a zagađeno područje mora se dekontaminirati, 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 dekontaminaciju svih slučajnih izlivanja, 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) u trajanju od najmanje 30 minuta 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, strogo slijedeći Upute za uporabu i Priručnik instrumenta.

Uporaba kompleta je moguća samo s ažuriranom verzijom softvera. Uvjerite se da se softver ugrađen u instrument podudara ili da je njegovo izdanje (Rel.) naprednije od onog navedenog u tablici objavljenoj na internetskoj stranici tvrtke Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

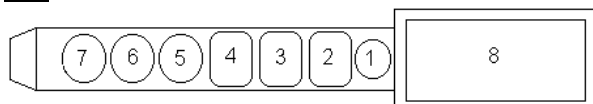
5. Provjerite je li alat Chorus ispravno postavljen (pogledajte Priručnik za uporabu Chorus).
6. Nemojte mijenjati crtični kod postavljen na ručku uređaja kako biste omogućili ispravno očitavanje instrumenta.
7. Izbjegavajte uporabu zamrzivača koji se sami odmrzavaju za čuvanje uzoraka.
8. Neispravni crtični kodovi mogu se unijeti ručno u instrument.
9. Ne izlažite uređaje jakoj rasvjeti ili pari hipoklorita tijekom skladištenja i uporabe.
10. Nemojte koristiti hemolizirane, lipemske, ikterične uzorke s koncentracijom disruptora većom od one ispitivane (prema uputama navedenima u poglavlju „Analitička specifičnost“).
11. Ne koristiti uređaj nakon datuma isteka
12. **Provjerite ima li instrument vezu s puferom za ispiranje (Ref. 83606)**

5. SASTAV KOMPLETA I PRIPREMA REAGENSA

Komplet je dovoljan za 36 određivanja.

DD UREĐAJI 6 paketa svaki od 6 uređaja

Opis:



Položaj 8: Prostor dostupan za oznaku crtičnog koda

Položaj 7: prazno

Položaj 6: Senzibilizirano s Mycoplasma pneumoniae antigenom: maksimalna koncentracija 2.51 µg/ml

Položaj 5: JAŽICA 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: RAZRJEDIVAČ ZA UZORKE

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

Položaj 2: KONJUGAT

Sadržaj: humana monoklonska protutijela anti-IgG (maksimalna koncentracija 1,5 µg/ml) 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.

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.

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.

Pouzdanost mjerenja kalibratora i pozitivna kontrola zajamčeni su lancem sljedivosti opisanim u nastavku.

Kalibrator i pozitivna kontrola proizvode se iz ljudskog uzorka s poznatom koncentracijom protutijela, razrijeđenih kako bi se postigla određena koncentracija, čiji je raspon ovisan o seriji i dodjeljuje se tijekom faze oslobađanja kontrole kvalitete pomoću niza sekundarnih kalibratora („Radni kalibratori“).

„Radni kalibratori“ pripremaju se i karakteriziraju u skladu s referentnim panelom ljudskog seruma, s različitim razinama antigena.

DRUGI MATERIJAL ZATRAŽEN, 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 RAZRJEDIVAČ UZORKA **REF** 83607
- Chorus/Chorus TRIO instrument
- 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

6. 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

7. VRSTA UZORKA I ČUVANJE

Uzorak čini serum dobiven iz krvi uzete venepunkcijom i obrađene prema potrebi standardnim laboratorijskim postupcima.

Prema smjernicama CLSI H18-A3, uzorci seruma koje treba analizirati moraju se koagulirati prije centrifugiranja; spontana i potpuna koagulacija obično se događa unutar 30-60 minuta na temperaturi između 22 °C-25 °C. Preporučuje se fizički odvojiti serum, centrifugiranjem, od kontakta sa stanicama što je prije moguće s vremenskim ograničenjem od najviše 2 sata od vremena prikupljanja.

Svježi serum se može čuvati 4 dana na 2/8 °C; za dulja razdoblja čuvanja zamrznuti na temperaturi ≤ -20 °C ne dulje od 47 mjeseci.

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 mikrobna kontaminacija koja može dovesti do netočnih rezultata.

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

Test nije primjenjiv 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, obrađivši 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
E-pošta: scientificsupport@diesse.it

10. TUMAČENJE TESTA

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:

POZITIVAN kada je rezultat > 18 AU/ml

NEGATIVAN kada je rezultat < 12 AU/ml

SUMNJIV/DVOSMISLEN: kada je rezultat između 12-18 AU/ml

Naslov	Tumačenje rezultata		Rezultat CHORUS
> 40 AU/mL	Visoki titar	Titar kompatibilan s nedavnom ili infekcijom M. pneumoniae 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	Neznata n 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 dvojbenog/dvosmislenog rezultata ponovite test. Ako rezultat ostane upitan/dvosmislen, ponovite vađenje.

11. OGRANIČENJA TESTA

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. RASPON KALIBRACIJE

Raspon kalibracije 0-100,0 AU/ml.

Za uzorke > 100,0 AU/ml ponoviti test prethodnim razrjeđivanjem uzorka u Negative Control/Sample Diluent otopini (PF83607- nije isporučena s kompletom).

13. ANALITIČKA SPECIFIČNOST

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

14. KOMPARATIVNE STUDIJE

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

Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV): = 95,2 CI₉₅ %: 89,9 %-100,0 %

Negativna prediktivna vrijednost (NPV): = 100,0 CI₉₅ %: 100,0– 100,0

15. PRECIZNOST I PONOVLJIVOST

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			Prosječno	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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. IZVJEŠTAVANJE O NEZGODI

Ako je došlo do ozbiljne nezgode povezane s ovim proizvodom na tržišnom području Europske unije, bez odgode ju prijavite proizvođaču i nadležnom tijelu svoje države članice.

18. SAŽETAK O SIGURNOSTI I UČINKOVITOSTI

Ovaj dokument, koji će biti dostupan u bazi podataka EUDAMED (kada bude u potpunosti implementirana i funkcionalna), dio je tehničke dokumentacije i može se zatražiti od proizvođača.



INSTRUKCJA UŻYCIA

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Tylko do diagnostyki *in vitro*

1. ZAMIERZONE ZASTOSOWANIE

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) to zestaw immunologiczny do półilościowego automatycznego oznaczania przeciwciał klasy IgG przeciwko Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym wywołującym pozaszpitalne zapalenie płuc. IgG pojawiają się po IgM i IgA i zazwyczaj osiągają szczyt w 5. tygodniu, dlatego zestaw jest używany jako pomoc w diagnozowaniu infekcji zapalenia płuc.

Test, wykonywany na ludzkiej surowicy za pomocą jednorazowego wyrobu dołączonego do aparatów CHORUS i CHORUS TRIO, powinien być używany wyłącznie przez profesjonalny personel laboratoryjny.

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, kosza, gospodarstwa domowe). Mycoplasma pneumoniae jest również nazywana pierwotnym atypowym zapaleniem płuc lub zapaleniem płuc wywołanym przez czynnik Eaton.

M. pneumoniae atakuje i niszczy komórki włosowate 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 wcześniej, 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. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

WYŁĄCZNIE DO UŻYTKU W DIAGNOSTYCE IN VITRO.

Ten zestaw zawiera materiały pochodzenia ludzkiego, które zostały przetestowane i uznane za ujemne zarówno dla HBsAg, jak i przeciwciał anti-HIV-1, anti-HIV-2 i anti-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 przepisami.

Ostrzeżenia dotyczące bezpieczeństwa osobistego

1. Nie należy pipetować ustami.
2. Podczas pracy z próbkami i w trakcie badania należy używać jednorazowych rękawic i ochrony oczu.
3. Po zakończeniu badania należy dokładnie umyć ręce.
4. W celu zapoznania się z charakterystyką bezpieczeństwa odczynników zawartych w zestawie należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki (dostępną na stronie DIESSE: www.diesse.it).
5. Zneutralizowane kwasy i inne odpady płynne należy zdezynfekować przez dodanie podchlorynu sodu w ilości wystarczającej do uzyskania końcowego stężenia co najmniej 1%. Ekspozycja na 1% podchloryn sodu przez 30 minut powinna być wystarczająca do zapewnienia skutecznej dezynfekcji.
6. Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją

pracy odkazić, np. 1% podchlorynem sodu. W przypadku obecności kwasu, podchloryn sodu nie może być stosowany do czasu osuszenia obszaru.

Wszystkie materiały użyte do odkażania przypadkowych wycieków, w tym rękawice, muszą być wyrzucone jako odpady potencjalnie zakaźne. Nie należy poddawać autoklawowaniu materiałów zawierających podchloryn sodu.

Ostrzeżenia analityczne

Przed użyciem należy doprowadzić wyroby medyczne przeznaczone do użycia do temperatury pokojowej (18-30°C) na co najmniej 30 minut i zużyć w ciągu 60 minut.

1. Wyrzucić wyroby z substratem (studzienka 4) zabarwionym na niebiesko.

- Podczas dodawania próbki do studzienki należy sprawdzić, czy jest ona idealnie rozprowadzona na dnie.
- Sprawdzić rzeczywistą obecność odczynników w wyrobie oraz stan samego wyrobu, nie używać wyrobów, które przy oględzinach wykazują brak jakiegos odczynnika.
- Wyroby muszą być używane w połączeniu z aparatem Chorus, ściśle przestrzegając instrukcji użycia oraz podręcznika aparatu.

Korzystanie z zestawu jest możliwe tylko z zaktualizowaną wersją oprogramowania. Upewnić się, że oprogramowanie zainstalowane w wyrobie jest zgodne lub ma wersję Release (Rel.) wyższą niż w tabeli opublikowanej na stronie internetowej Diesse.

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

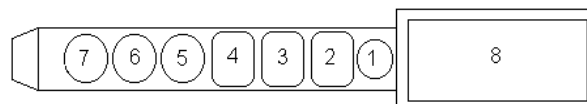
- Sprawdzić, czy aparat Chorus jest ustawiony prawidłowo (patrz Instrukcja obsługi Chorus).
- Nie należy zmieniać kodu kreskowego na uchwycie urządzenia, aby umożliwić jego prawidłowy odczyt przez urządzenie.
- Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek.
- Wadliwe kody kreskowe mogą być ręcznie wprowadzone do aparatu.
- Podczas przechowywania i użytkowania nie należy narażać wyrobów na działanie silnego światła lub oparów podchlorynu.
- Nie należy używać próbek hemolizowanych, lipemicznych, żółtaczkowych o wyższym stężeniu interferentów niż testowane (zgodnie ze wskazówkami w rozdziale „Swoistość analityczna”).
- Nie należy używać wyrobu po upływie terminu ważności.
- Sprawdzić, czy aparat ma połączenie z buforem do płukania (Odn. 83606)**

5. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Zestaw wystarcza na wykonanie 36 oznaczeń.

DD WYROBY 6 opakowań po 6 wyrobów w każdym

Opis:



Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: pusta

Pozycja 6: Uczulona antygenem *Mycoplasma pneumoniae*: maksymalne stężenie 2,51 µg/ml

Pozycja 5: STUDZIENKA NA MIKROPLYTKĘ nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

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

Pozycja 3: ROZCIEŃCZALNIK 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 (maksymalne stężenie 1.5 µg/ml), w roztworze buforowanym fosforanem zawierającym 0.05% fenol i 0.02% Bronidox.

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

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

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.

Wiarygodność pomiarów Kalibratora i Kontroli dodatniej jest gwarantowana przez łańcuch identyfikowalności opisany poniżej.

Kalibrator i Kontrola dodatnia są wykonane z próbki ludzkiej o znanym stężeniu przeciwciał, rozcieńczonej do osiągnięcia określonego stężenia, którego zakres zależy od partii i przypisuje się podczas fazy uwalniania kontroli jakości przy użyciu serii wtórnych kalibratorów („Kalibrator roboczy”).

„Kalibratory robocze” są przygotowywane i charakteryzowane w porównaniu z panelem ludzkich surowic referencyjnych o różnych poziomach antygenu.

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
- Aparat Chorus/Chorus TRIO
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Zwykle 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

6. 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

7. RODZAJ PRÓBK I JEJ PRZECHOWYWANIE

Próbka to surowica uzyskana z krwi pobranej przez nakłucie żyły i traktowana zgodnie z wymaganiami standardowych procedur laboratoryjnych.

Zgodnie z wytycznymi CLSI H18-A3 próbki surowicy przeznaczone do analizy muszą zostać poddane koagulacji przed wirowaniem; samoistna i całkowita koagulacja następuje zwykle w ciągu 30-60 minut w temperaturze 22°C-25°C. Zaleca się jak najszybsze oddzielenie surowicy od komórek poprzez odwirowanie, maksymalnie w ciągu 2 godzin od momentu pobrania.

Świeżą surowicę można przechowywać przez 4 dni w temperaturze 2/8°C; w przypadku dłuższego przechowywania należy ją zamrozić w temperaturze ≤ -20°C na okres nieprzekraczający 47 miesięcy.

Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek. Próbka 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, ikterycznych, 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 wyrobu 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

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACJA BADANIA

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

Stopień odporności badanej surowicy można interpretować w następujący sposób:

DODATNI: gdy wynik jest > 18 IU/ml

UJEMNY: gdy wynik jest < 12 IU/ml

WĄTPLIWY/NIEJEDNOZNACZNY: gdy wynik jest pomiędzy 12-18 AU/ml

Miano	Interpretacja wyników		Wynik CHORUS
> 40 AU/ml	Miano wysokie	Miano zgodne z trwającym lub niedawno przebyłym 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 wątpliwy/niejednoznaczny, należy powtórzyć pobieranie próbek.

11. OGRANICZENIA BADANIA

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. ZAKRES KALIBRACJI

Zakres kalibracji 0-100,0 AU/ml.

Dla próbek > 100,0 AU/ml powtórzyć test rozcieńczając wstępnie próbkę w Negative Control/Sample Diluent (PF83607- niedołączony do zestawu).

13. SWOISTOŚĆ ANALITYCZNA

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

14. BADANIA PORÓWNAWCZE

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 uznany 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

Dodatnia wartość predykcyjna (PPV): = 95,2 CI_{95%}: 89.9 – 100.0

Ujemna wartość predykcyjna (NPV): = 100,0 CI_{95%}: 100.0 – 100.0

15. PRECYZJA I POWTARZALNOŚĆ

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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. ZGŁOSZENIE ZDARZENIA

Jeśli w związku z tym wyrobem doszło do poważnego wypadku na terytorium rynkowym Unii Europejskiej, prosimy o niezwłoczne zgłoszenie tego faktu producentowi i właściwemu organowi państwa kraju członkowskiego.

18. PODSUMOWANIE BEZPIECZEŃSTWA I WYDAJNOŚCI

Niniejszy dokument, który zostanie udostępniony w bazie danych EUDAMED (po jego pełnym wdrożeniu i funkcjonalności), stanowi część dokumentacji technicznej i można go uzyskać od producenta.



NAVODILA ZA UPORABO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Samo za diagnostično uporabo *in vitro*

1. NAMEN UPORABE

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) je imunološki komplet za polkvantitativno avtomatsko določanje protiteles IgG proti Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae je najpogostejši etiološki povzročitelj pljučnice, pridobljene v skupnosti. IgG se pojavijo za IgM in IgA ter običajno dosežejo vrh v petem tednu, zato se komplet uporablja kot pomoč pri diagnosticiranju okužbe s pljučnico.

Test, ki se izvaja na človeškem serumu s pripomočkom za enkratno uporabo, pritrjenim na instrumente CHORUS in CHORUS TRIO, lahko uporablja le strokovno laboratorijsko osebje.

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 bronhiolit.

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 pogosteje prisotna v primerih primarne okužbe, kar dokazuje njihova prisotnost pri mlajših pacientih. Pri starejših pacientih 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. PREVIDNOSTNI UKREPI

SAMO ZA DIAGNOSTIČNO UPORABO IN VITRO.

Ta komplet vsebuje materiale človeškega izvora, ki so bili testirani in negativni 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.
 2. Pri ravnanju z vzorci in med testiranjem uporabljajte rokavice za enkratno uporabo in zaščito za oči.
 3. Po končanem testiranju si dobro umijte roke.
 4. Varnostne značilnosti reagentov v kompletu so navedene v varnostnem listu (na voljo na spletni strani DIESSE: www.diesse.it).
 5. 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 naj bi zadostovala za zagotovitev učinkovitega razkuževanja.
 6. Vsako razlitje potencialno okuženih materialov je treba takoj odstraniti z vpojnim papirjem, pred nadaljevanjem dela pa onesnaženo območje dekontaminirati, 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 dekontaminacijo naključnih razlitij, vključno z rokavicami, je treba zavreči kot potencialno okužene odpadke. Ne avtoklavirajte materialov, ki vsebujejo natrijev hipoklorit.

Analitična opozorila

Pred uporabo pripomočke premaknite na sobno temperaturo (18-30 °C) za vsaj 30 minut 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, pri čemer je treba dosledno upoštevati navodila za uporabo in priročnik instrumenta. Uporaba kompleta je mogoča le s posodobljeno različico programske opreme. Prepričajte se, da je programska oprema, ki je nameščena v instrumentu, enaka ali ima izdajo (Rel.), ki je novejša od navedene v tabeli, objavljeni na spletni strani Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

5. Preverite, ali je instrument Chorus pravilno nastavljen (glejte Priročnik za uporabo Chorus).

6. Ne spreminjajte črtne kode na ročaju pripomočka, da jo bo instrument lahko pravilno prebral.

7. Za shranjevanje vzorcev se izogibajte uporabi samoodmrzovalnih zamrzovalnikov.

8. Poškodovane črtne kode lahko ročno vnesete v instrument.

9. Med skladiščenjem in uporabo pripomočkov ne izpostavljajte močni svetlobi ali hlapom hipoklorita.

10. Ne uporabljajte hemoliziranih, lipemičnih in ikteričnih vzorcev z višjo koncentracijo motečih snovi od testirane (v skladu z navedbami v poglavju "Analitična specifičnost").

11. Pripomočka ne uporabljajte po izteku roka uporabnosti

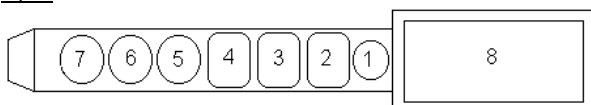
12. **Preverite, ali je instrument priključen na pufer za spiranje (Ref. 83606)**

5. SESTAVA KOMPLETA IN PRIPRAVA REAGENTOV

Komplet zadostuje za 36 določitev.

DD PRIPOMOČKI 6 paketov po 6 pripomočkov

Opis:



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

Položaj 7: prazen

Položaj 6: Senzibilizirana z antigenom Mycoplasma pneumoniae: največja koncentracija 2,51 µg/ml

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 človeškim IgG (največja koncentracija 1,5 µg/ml) 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.

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.

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.

Zanesljivost meritev kalibratorja in pozitivne kontrole je zagotovljena z verigo sledljivosti, opisano v nadaljevanju.

Kalibrator in pozitivna kontrola sta izdelana iz človeškega vzorca z znano koncentracijo antigenov, razredčenih do določene koncentracije, katere razpon je odvisen od serije in se določi v fazi sproščanja kontrole kakovosti z uporabo serije sekundarnih kalibratorjev ("Working calibrator").

Kalibratorji "Working calibrator" se pripravijo in opredelijo glede na referenčni reprezentativni vzorec človeških serumov z različnimi ravni antigenov.

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
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- 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
- Zbojniki za zbiranje potencialno okuženih materialov

6. 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

POZITIVEN: če je rezultat > 18 AU/ml
NEGATIVEN: če je rezultat < 12 AU/ml
DVOMLJIV / SUMLJIV: ko je rezultat med 12-18 AU/ml

7. VRSTA VZORCA IN SHRANJEVANJE

Vzorec je serum, pridobljen iz krvi, odvzete z vensko punkcijo, in obdelan v skladu s standardnimi laboratorijskimi postopki.

V skladu s smernicami CLSI H18-A3 je treba vzorce seruma za analizo pred centrifugiranjem koagulirati; spontana in popolna koagulacija običajno nastopi v 30-60 minutah pri 22 °C-25 °C. Priporočljivo je, da serum čim prej fizično ločite od stika s celicami s centrifugiranjem, in sicer največ 2 uri po odvzemu.

Sveži serum lahko hranite 4 dni pri temperaturi 2/8 °C; za daljše shranjevanje ga zamrznete na ≤-20 °C za obdobje, ki ni daljše od 47 mesecev.

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 mikrobná 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 priložnikom 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
e-pošta: scientificsupport@diesse.it

10. RAZLAGA TESTA

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:

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, odvzem ponovite.

11. OMEJITVE TESTA

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. KALIBRACIJSKO OBMOČJE

Kalibracijsko območje 0-100,0 AU/ml.

Za vzorce > 100,0 AU/ml test ponovite tako, da vzorec predhodno razredčite v raztopini za negativno kontrolo / razredčilo vzorca (PF83607 - ni priložena kompletu).

13. ANALITIČNA SPECIFIČNOST

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

14. PRIMERJALNE ŠTUDIJE

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

Občutljivost 100,0 % $CI_{95} \%$: 91,2 do 100,0

Specifičnost 90,5 % $CI_{95} \%$: 71,1 do 97,3

Pozitivna napovedna vrednost (PPV): = 95,2 $CI_{95} \%$: 89,9-100,0

Negativna napovedna vrednost (NPV): = 100,0
 $CI_{95} \%$: 100,0-100,0

15. NATANČNOST IN PONOVLJIVOST

Tabela 1. Natančnost v okviru seje

	Število ponovit ev	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 %
	Serijska 475	Serijska 459	Serijska 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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. POROČANJE O INCIDENTIH

Če je prišlo do resne nesreče v zvezi s tem pripomočkom na tržnem območju Evropske unije, o tem nemudoma obvestite proizvajalca in pristojni organ svoje države članice.

18. POVZETEK O VARNOSTI IN UČINKOVITOSTI

Ta dokument, ki bo na voljo v podatkovni zbirki EUDAMED (ko bo v celoti vzpostavljena in delujoča), je del tehnične dokumentacije in ga je mogoče zahtevati od proizvajalca.



NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Skirta tik diagnostiniam naudojimui *in vitro*

1. NAUDOJIMO PASKIRTIS

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) yra imunologinis rinkinys, skirtas pusiau kiekybiniam automatiniam IgG antikūnų prieš Mycoplasma pneumoniae nustatymui.

Mycoplasma Pneumoniae yra dažniausias etiologinis sukėlėjas, sukeliantis pneumoniją, užsikrečiant bendro naudojimo patalpose. IgG atsiranda po IgM ir IgA ir paprastai pasiekia piką 5-ąją savaitę, todėl rinkinys naudojamas kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant pneumonijos infekciją.

Tyrimą, atliekamą žmogaus serume naudojant vienkartinę priemonę, prijungtą prie CHORUS ir CHORUS TRIO instrumentų gali atlikti tik profesionalūs laboratorijos darbuotojai.

2. ĮVADAS

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 ltono 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-ąją savaitę. Didelis titras ir žymus jo padidėjimas tarp dviejų mėginių, paimtų maždaug 2 savaitių 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. Neprisijungęs 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. ATSARGUMO PRIEMONĖS

TIK IN VITRO DIAGNOSTIKAI.

Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės medžiagų, kurios buvo ištirtos ir gautas neigiamas rezultatas atlikus tyrimus ieškant HBsAg ir anti-ŽIV 1, anti-ŽIV 2, tiek anti-HCV antikūnų. Kadangi joks diagnostinis tyrimas negali visiškai užtikrinti, kad infekcijos sukėlėjų nėra, bet kokia žmogaus kilmės medžiaga turi būti laikoma potencialiai užkrešta. 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.
2. Dirbdami su mėginiais ir atlikdami bandymą, mūvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite akių apsaugos priemones.
3. Baigę tyrimą, kruopščiai nusiplaukite rankas.
4. Rinkinyje esančių reagentų saugos charakteristikų ieškokite saugos duomenų lapuose (pateikiama DIESSE svetainėje: www.diesse.it).
5. Neutralizuotos rūgštys ir kitos skystos atliekos turi būti dezinfekuojamos įpilant natrio hipochlorito tiek, kad galutinė koncentracija būtų ne mažesnė, kaip 1 %. Veiksmingai dezinfekcijai užtikrinti turėtų pakakti 1 % natrio hipochlorito poveikio 30 minučių.
6. Bet koks galimai užkrėstų medžiagų išsiliejimas turi būti nedelsiant pašalintas sugeriamuoju popieriumi, o prieš tęsiant darbą, užteršta vieta turi būti nukenksmintą, pvz., 1 % natrio hipochloritu. Jei yra rūgštis, natrio hipochlorito negalima naudoti tol, kol vieta neišdžiovinama.

Visos medžiagos, naudojamos atsitiktiniams išsiliejimams nukenksminti, 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) bent 30 minučių ir panaudokite per 60 minučių.

1. Išmeskite prietaisus, kurių substratas (4 duobutė) nuspalvintas mėlyna spalva.

- Įpilkite mėginį į duobutę ir patikrinkite, ar jis puikiai pasiskirstė ant dugno.
- Patikrinkite, ar priemonėje iš tikrųjų yra reagentų, ir pačios priemonės sveikumą, nenaudokite prietaisų, kuriuose, vizualiai patikrinus, trūksta tam tikro reagento.
- Priemonės turi būti naudojamos kartu su „Chorus“ instrumentu, griežtai laikantis naudojimo instrukcijų ir instrumento vadovo.

Rinkinį galima naudoti tik su atnaujinta programinės įrangos versija. Įsitikinkite, kad prietaise įdiegta programinė įranga yra tokia pati arba jos leidimas („Release, Rel.“) yra aukštesnis nei lentelėje, paskelbtoje „Diesse“ interneto svetainėje

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

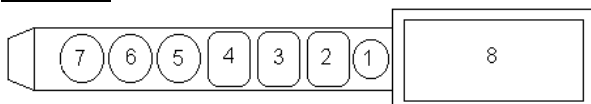
- Patikrinkite, ar teisingai nustatytas „Chorus“ instrumentas (žr. „Chorus“ naudotojo vadovą).
- Nekeiskite ant prietaiso rankenos esančio brūkšninio kodo, kad prietaisas jį teisingai nuskaitytų.
- Mėginiams laikyti nenaudokite automatiškai atitirpstančių šaldiklių.
- Defektinius brūkšninius kodus į prietaisą galima įvesti rankiniu būdu.
- Laikydami ir naudodami priemones, saugokite jas nuo stipraus apšvietimo ir hipochlorito garų.
- Nenaudokite hemolizuotų, lipeminių, ikterinių mėginių, kuriuose interferentų koncentracija yra didesnė nei tiriama (pagal skyriuje „Analizės specifiškumas“ pateiktus nurodymus).
- Nenaudokite priemonės pasibaigus galiojimo laikui
- Patikrinkite, ar instrumentas turi jungtį su „Washing Buffer“ (plovimo buferiniu tirpalu) (Ref. 83606)

5. RINKINIO SUDĖTIS IR REAGENTŲ PARUOŠIMAS

Rinkinio pakanka 36 tyrimams atlikti.

DD PRIEMONĖS 6 pakuotės po 6 priemonės kiekvienoje

Aprašymas:



8 pozicija: Etiketė su brūkšninio kodo skirta vieta

7 pozicija: tuščia

6 pozicija: Jautri Mycoplasma pneumoniae antigenui: didžiausia koncentracija 2,51 µg/ml

5 pozicija: MIKROPLOKŠTELĖS DUOBUTĖ nejautri.

4 pozicija: TMB SUBSTRATAS

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

3 pozicija: SKIEDIKLIS MĖGINIAMS

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

2 pozicija: KONJUGATAS

Sudėtis: peroksidaze žymėti monokloniniai žmogaus IgG antikūnai (didžiausia koncentracija 1,5 µg/ml) fosfatiniame buferiniame tirpale, kuriame yra 0,05 % fenolio ir 0,02 % bronidokso.

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

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.

CALIBRATOR | KALIBRATORIUS 1 x 0,425 ml

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

CONTROL + | TEIGIAMA KONTROLINĖ PRIEMONĖ 1 x 0,425 ml

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

Kalibratoriaus ir teigiamos kontrolės matavimų patikimumą užtikrina toliau aprašyta atsekamumo grandinė.

Kalibratorius ir teigiamas kontrolinis serumas gaminami iš žinomos koncentracijos žmogaus mėginio, kuriame yra antigenų, praskiestų iki tam tikros koncentracijos, kurios intervalas priklauso nuo partijos ir yra nustatomas kokybės kontrolės išleidimo etape naudojant antrinius kalibratorius („Working calibrator“).

„Working calibrator“ paruošiami ir apibūdinami pagal žmogaus etaloninių serumų, turinčių skirtingus antigenų kiekius, grupę.

KITA REIKALINGA, BET NETIEKIAMA MEDŽIAGA.

- PLOVIMO BUFERINIS TIRPALAS **NUOR** 83606
- VALYMO TIRPALAS 2000 **NUOR** 83609
- HIGIENIZAVIMO TIRPALAS **NUOR** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumentas „Chorus“ / „Chorus TRIO“
- 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

6. 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

7. MĖGINIO TIPAS IR LAIKYMAS

Mėginys yra serumas, gautas iš kraujo, paimto venos punkcijos būdu, ir tvarkomas pagal standartines laboratorines procedūras.

Pagal CLSI H18-A3 rekomendaciją, prieš centrifuguojant serumo mėginiai turi sukrešėti; savaiminė ir visiška koaguliacija paprastai įvyksta per 30–60 minučių 22–25 °C temperatūroje. Rekomenduojama kuo greičiau fiziškai atskirti serumą nuo ląstelių kontakto centrifuguojant, bet ne ilgiau kaip per 2 valandas nuo surinkimo momento.

Šviežus serumas gali būti laikomas 4 dienas 2/8 °C temperatūroje; jei norite jį laikyti ilgiau, užšaldykite ≤-20 °C temperatūroje ne ilgesniam, kaip 47 mėnesių laikotarpiui.

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

- Atidarykite maišelį (pusėje, kurioje yra slėginis užraktas), išimkite tyrimams atlikti reikalingą skaičių priemonių, o kitas pasilikite, vėl uždarę maišelį ir išleidę orą.
- Vizualiai patikrinkite priemonės būklę pagal 6 skyriaus „Analitiniai įspėjimai“ 1 ir 8 punktuose pateiktus nurodymus.
- Į kiekvienos priemonės 1 duobutę įpilkite 50 µl neskieto serumo, kurį reikia ištirti, ir kiekvieną kartą keisdami seriją naudokite kalibravimo prietaisą.
- 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

el. paštas: scientificsupport@diesse.it

10. TYRIMO 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:

TEIGIAMAS: kai rezultatas yra > 18 AU/ml

NEIGIAMAS: kai rezultatas yra < 12 AU/ml

ABEJOTINAS / NEAIŠKUS: kai rezultatas yra nuo 12-18 AU/ml

Pavadinimas	Rezultatų aiškinimas		„CHORUS“ rezultatas
> 40 AU/ml	Didelis kiekis	Kiekis, atitinkantis vykstančią arba neseniai persirgtą M. pneumoniae 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. TYRIMO 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. KALIBRAVIMO DIAPAZONAS

Kalibravimo diapazonas 0–100,0 AU/ml.

Jei mėginių kiekis > 100,0 AU/ml, pakartokite tyrimą, prieš tai praskiedę mėginį neigiamu kontroliniu serumu / mėginio skiedikliu (PF83607 – su rinkiniu netiekiamas).

13. ANALITINIS SPECIFIŠKUMAS

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

14. LYGINAMIEJI TYRIMAI

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

Teigiama prognostinė vertė (PPV): = 95,2 CI₉₅ %: 89,9–100,0

Neigiama prognostinė vertė (NPV): = 100,0 CI₉₅ %: 100,0–100,0

15. TIKSLUMAS IR PAKARTOJAMUMAS

1 lentelė. Tikslumas sesijos vietoje

	Pakarto jimų skaičiu s	Vidutini s AU/ml	St. nuokr.	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	St. nuokr.	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

16. 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.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. PRANEŠIMAS APIE INCIDENTUS

Jei Europos Sąjungos rinkos teritorijoje įvyko rimtas nelaimingas atsitikimas, susijęs su šia priemone, nedelsdami praneškite apie tai gamintojui ir savo valstybės narės kompetentingai institucijai.

18. SAUGOS IR VEIKLOS REZULTATŲ SUVESTINĖ

Šis dokumentas, kuris bus paskelbtas EUDAMED duomenų bazėje (kai ji bus visiškai įdiegta ir veiks), yra techninės dokumentacijos dalis ir jo galima paprašyti iš gamintojo.



ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Само за диагностична употреба *in vitro*

1. ПРЕДНАЗНАЧЕНО ИЗПОЛЗВАНЕ

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) е имунологичен комплект за полуколичествено автоматизирано определяне на IgG антитела срещу Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae е най-честият етиологичен агент, причиняващ извънболнична пневмония. IgG се появява след IgM и IgA и обикновено достига своя пик през 5-ата седмица, поради това комплектът се използва като помощно средство при диагностицирането на инфекция с пневмония.

Тестът, извършен върху човешки серум с помощта на устройство за еднократна употреба, приложено към инструментите CHORUS и CHORUS TRIO, трябва да се използва изключително от професионален лабораторен персонал.

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. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

САМО ЗА ИН ВИТРО ДИАГНОСТИКА.

Този комплект съдържа материали от човешки произход, които са тествани и са отрицателни 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 разпоредбите.

Предупреждения за лична безопасност

1. Не пипетирайте с уста.
2. Използвайте ръкавици за еднократна употреба и предпазни очила при работа с пробите и по време на теста.
3. След приключване на теста измийте добре ръцете си.
4. За характеристиките за безопасност на реагентите, включени в комплекта, моля, направете справка в информационния лист за безопасност (достъпен на уебсайта на DIESSE: www.diesse.it).
5. 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 трябва да е достатъчно, за да се осигури ефективна дезинфекция.

6. Всеки разлив на потенциално инфектирани материали трябва да се отстрани незабавно с абсорбираща хартия, а замърсената зона трябва да се дезинфектира, напр. 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 обеззаразяване на случайни разливи, включително ръкавици, трябва да се изхвърлят като потенциално инфекциозен отпадък. Не използвайте автоклав за материали, съдържащи натриев хипохлорит.

Аналитични предупреждения

Преди употреба поставете изделията, които ще използвате, на стайна температура (18 – 30°C) за поне 30 минути 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, като се спазват стриктно инструкциите за употреба и ръководството на инструмента.

Използването на комплекта е възможно само с актуализирана версия на софтуера. Уверете се, че софтуерът, инсталиран на инструмента, е същият или има версия (Rel.), по-висока от тази, посочена в таблицата, публикувана на уебсайта на Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>).

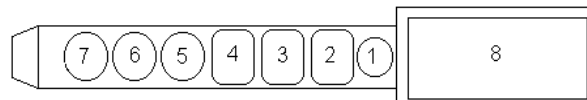
5. Проверете дали инструментът Chorus е правилно настроен (вж. Ръководството за потребителя на Chorus).
6. Не променяйте баркода върху дръжката на устройството, за да може той да бъде прочетен правилно от инструмента.
7. Избягвайте използването на саморазмразяващи се фризери за съхранение на проби.
8. Дефектните баркодове могат да бъдат въведени ръчно в инструмента.
9. Не излагайте устройствата на силна светлина или хипохлоритни пари по време на съхранение и употреба.
10. Не използвайте хемолизирани, липемични, иктерични проби с по-висока концентрация на интерференти от тестваната (съгласно указанията в глава "Аналитична специфичност").
11. Не използвайте устройството след изтичане на срока на годност
12. **Проверете дали инструментът има връзка към буфера за промиване (вж. 83606)**

5. СЪСТАВ НА КОМПЛЕКТА И ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТ

Комплектът е достатъчен за 36 определяния.

DD УСТРОЙСТВА 6 опаковки с по 6 устройства

Описание:



Позиция 8: Свободно място за етикет с баркод

Позиция 7: празна

Позиция 6: Сенсibiliзиран с антиген на *Mycoplasma pneumoniae*: максимална концентрация 2,51 µg/ml

Позиция 5: ЯМКА ЗА МИКРОПЛАКА не е сенсibiliзиран.

Позиция 4: TMB СУБСТРАТ

Съдържание: Тетраметилбензидин 0,26 mg/ml и H₂O₂ 0,01%, стабилизирани 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: човешки моноклонални IgG антитела (максимална концентрация 1,5 µg/ml, маркирани с пероксидаза, във фосфатен буферен разтвор, съдържащ фенол 0,05% и Бронидокс 0,02%.

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

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.

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.

Надеждността на измерванията на калибратора и на положителната контрола се гарантира от веригата за проследяване, описана по-долу.

Калибраторът и положителната контрола се произвеждат от човешка проба с известна концентрация на антигени, разредена до достигане на специфична концентрация, чийто диапазон зависи от партидата и се определя по време на фазата на освобождаване от контрола на качеството с помощта на серия от вторични калибратори („Работен калибратор“).

“Работните калибратори” се подготвят и характеризират в съответствие с панел от човешки референтни серуми с различни нива на антигени.

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

- 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
- Инструмент Chorus/Chorus TRIO
- Дестилирана или дейонизирана вода
- Обикновена лабораторна стъклария: 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

6. 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

7. ВИД НА ПРОБАТА И СЪХРАНЕНИЕ

Видът на пробата е серум, получен от кръв, взета чрез венепункция, и обработена съгласно стандартните лабораторни процедури.

Съгласно насоките CLSI H18-A3, серумните проби за анализ трябва да бъдат коагулирани преди центрофугирането; спонтанната и пълна коагулация обикновено настъпва в рамките на 30 – 60 минути при 22°C – 25°C. Препоръчва се серумът да се отдели физически чрез центрофугиране от контакта с клетките възможно най-скоро, като максималният срок е 2 часа от момента на пробовземането.

Пресният серум може да се съхранява в продължение на 4 дни при 2/8°C; за по-дълъг период на съхранение замразете при температури ≤ -20°C за период не по-дълъг от 47 месеца.

Избягвайте използването на саморазмразяващи се фризерни съхранения 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 µl 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

имейл: scientificsupport@diesse.it

10. ТЪЛКУВАНЕ НА ТЕСТА

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

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

ПОЛОЖИТЕЛЕН, когато резултатът е > 18 AU/ml

НЕГАТИВЕН: когато резултатът е < 12 AU/ml

СЪМНИТЕЛЕН/НЕЕДНОЗНАЧЕН: когато резултатът е между 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 разреждете 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/неоднозначен резултат повторете теста. Ако резултатът остане съмнителен/неоднозначен, повторете вземането на пробата.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

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. ОБХВАТ НА КАЛИБРИРАНЕ

Обхват на калибриране 0-100,0 AU/mL.

За проби $> 100,0$ AU/mL повторете теста, като предварително разтворите пробата в отрицателна контрола/разредител за проби (PF83607 - не се доставя с комплекта).

13. АНАЛИТИЧНА СПЕЦИФИЧНОСТ

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

14. СРАВНИТЕЛНИ ПРОУЧВАНИЯ

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

Положителна прогнозна стойност (PPV):= 95,2 CI_{95%}: 89.9 – 100.0

Отрицателна прогнозна стойност (NPV):= 100,0 CI_{95%}:100.0– 100.0

15. ПРЕЦИЗНОСТ И ПОВТОРЯЕМОСТ

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

16. БИБЛИОГРАФИЯ

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.

6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. ДОКЛАДВАНЕ НА ИНЦИДЕНТИ

Ако на територията на Европейския съюз е възникнал сериозен инцидент, свързан с това устройство, моля, незабавно съобщете за това на производителя и на компетентния орган на вашата държава членка.

18. ОБОБЩЕНИЕ ОТНОСНО БЕЗОПАСНОСТТА И ЕФЕКТИВНОСТТА

Този документ, който ще бъде достъпен в базата данни на EUDAMED (когато бъде напълно въведена и функционираща), е част от техническата документация и може да бъде поискан от производителя



KASUTUSJUHE

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG

Ainult *in vitro* diagnostikaks

1. KAVANDATUD KASUTUSALA

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgG (REF 81034) on immuunanalüüsi komplekt *Mycoplasma pneumoniae* vastaste IgG tüüpi antikehade automaatseks poolkvantitatiivseks määramiseks.

Mycoplasma pneumoniae on kogukonnas tekkinud kopsupõletiku levinuim etioloogiline tegur. IgG tüüpi antikehad tekivad organismis hiljem kui IgM ja IgA tüüpi antikehad ning nende maksimaalne sisaldus saavutatakse tavaliselt 5. nädalal. Seetõttu kasutatakse seda komplekti abivahendina nakkusliku kopsupõletiku diagnoosimisel.

Inimese seerumi analüüsi CHORUS-i või CHORUS TRIO aparaadile paigaldatud ühekordselt kasutatava seadmega tohivad teha ainult erialase väljaõppega laboritöötajad.

2. SISSEJUHATUS

Mycoplasma pneumoniae on kogukonnas tekkinud kopsupõletiku levinuim etioloogiline tegur, eriti 5–30-aastaste seas; see võib põhjustada epideemiaid, mis laienevad aeglaselt, kuna haiguse peiteaeg on 10–14 päeva ja nakatuvad tihedas kontaktis või eraldatud rühmades (koolid, sõjaväe kasarmud, perekonnad) elavad isikud. Mükoplasma põhjustatud kopsupõletikku nimetatakse veel ebatüüpiliseks esmaseks kopsupõletikuks ja ingliskeelsetes allikates ka Eaton'i kopsupõletikuks (*Eaton's pneumonia*).

Mycoplasma pneumoniae ründab ja hävitab hingamisteede limaskestast ripsepiteeli rakke. Interstitsiaalne kopsupõletik, bronhiit ja bronhioliit on tuvastatav mikroskoopilise uurimisega.

Erinevate etioloogiliste tegurite põhjustatud sümptomite kordumise tõttu on ägeda kopsupõletiku diagnoosimiseks vaja täiendavaid diagnostilisi meetmeid, näiteks seroloogilisi analüüse.

Mycoplasma pneumoniae nakkuse järgne immuunvastus sõltub nakkuse tüübist: IgM tüüpi antikehad on sagedamad esmaste nakkuste korral, nagu näitab nende esinemine noorematel patsientidel. IgM sisaldus on väike või puudub vanematel patsientidel, kellel on suurem tõenäosus taasnakatamiseks. Teisest küljest: IgA on kõige tundlikum marker käimasoleva nakkuse, taasnakatamise või hiljutise nakkuse tuvastamiseks.

Spetsiifilised IgA tüüpi antikehad tekivad nakkuse alguses ja nende sisaldus suureneb maksimumini esimese nelja nädala jooksul, vähenedes seejärel üsna kiiresti (varem kui IgG sisaldus); tihti saab ägeda nakkuse diagnoosida ühe proovi analüüsi alusel. IgG tüüpi antikehad tekivad organismis hiljem kui IgM ja IgA tüüpi antikehad ning nende maksimaalne sisaldus saavutatakse tavaliselt 5. nädalal. Suur sisaldus ja selle märkimisväärne kasv kahe umbes

kahenädalase vahega võetud proovi põhjal kinnitab käimasolevat nakkust.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Analüüs lähtub immunoensüümmeetodi (*enzyme linked immunosorbent assay*, ELISA) põhimõttest.

Mükoplasma antigeen, mis on ultraheliga töödeldud ja lahustatud, seostub tahke faasiga. Spetsiifilised immunoglobuliinid seonduvad antigeeniga, kui neid inkubeeritakse inimese lahjendatud seerumiga. Pärast pesemist, et eemaldada reageerimata jäänud valgud, toimub inkubeerimine konjugaadiga (st määrõika peroksüdaasiga konjugeeritud monoklonaalsete inimese IgG vastaste antikehadega). Seejärel kõrvaldatakse sidumata jäänud konjugaat ja lisatakse peroksüdaasi substraat.

Tekkiva sinise värvuse tugevus on proportsionaalne uuritavas seerumis olevate spetsiifiliste antikehade kontsentratsiooniga.

Ühekordselt kasutatavad seadmed sisaldavad kõiki reaktiive analüüsi tegemiseks Chorusi / Chorus TRIO aparaadiga.

Tulemused on väljendatud vabalt valitud ühikutes milliliitri kohta (*arbitrary units per milliliter*, AU/ml), mis on arvutatud analüüsisarja sisese standardkõvera alusel.

4. HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

AINULT IN VITRO DIAGNOSTIKAKS

See komplekt sisaldab inimpäritolu materjale, mis on analüüsides andnud negatiivse tulemuse HBsAg ning HIV-1-, HIV-2 ja HCV-vastaste antikehade suhtes. Kuna ükski diagnostiline analüüs ei saa anda täielikku garantiid nakkusetekitajate puudumise kohta, tuleb kogu inimpäritolu materjali käsitleda kui potentsiaalselt nakkusohklikku. Inimpäritolu materjali käitlemisel tuleb järgida kõiki labori tavapäraseid ettevaatusabinõusid.

Jäätmete kõrvaldamine: kasutatud seerumiproove, kalibreerimislahuseid ja komplekte tuleb käsitleda nakkusohlike jääkidenähtude ja kõrvaldada seadusega ette nähtud korra alusel.

Tervishoiu- ja ohutusteave

1. Ärge pipeteerige suuga.
2. Proovide käsitlemisel kandke ühekordselt kasutatavaid kindaid ja silmakaitsevahendeid.
3. Pärast seadmete asetamist CHORUS-i aparati peske hoolikalt käsi.
4. Komplektis sisalduvate reaktiivide ohutusomadusi vt ohutuskardilt (saadaval DIESSE'i veebilehel: www.diesse.it).
5. Neutraliseeritud hapetes ja muudes vedelates jäätmetes sisalduvad haigustekitajad tuleb kahjutuks teha, lisades piisava koguse naatriumhüpokloriiti, et saavutada vähemalt 1,0% lõppkontsentratsioon. Tõhusaks dekontaminatsiooniks võib olla vajalik 30-minutiline kokkupuude 1% naatriumhüpokloritiga.
6. Potentsiaalselt nakkusohlike materjalide lekked tuleb viivitamatult kõrvaldada imava paberrätikuga ja saastunud ala tuleb enne töö jätkamist pühkida pühkida 1,0% naatriumhüpokloriti vm vahendiga. Naatriumhüpokloritit ei

tohi kasutada happeid sisaldavate lekete puhul, kui lekke piirkonda ei ole esmalt kuivaks pühitud.

Lekke piirkonna puhastamiseks kasutatud vahendid, sealhulgas kindad, tuleb hävitada kui võimalikud bioloogiliselt ohtlikud jäätmed. Mitte autoklaavida materjale, mis sisaldavad naatriumhüpokloriiti.

Analüütilised ettevaatusabinõud

Enne kasutamist hoidke seadmeid vähemalt 30 minutit toatemperatuuril (18–30 °C); kasutage 60 minuti jooksul.

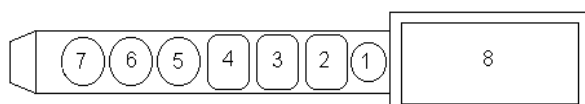
1. **Ärge kasutage seadmeid, mille substraat (4. kaevuke) on sinise värvusega.**
2. Proovi kaevukesse lisades veenduge, et see jaotuks kaevukese põhjas ühtlaselt.
3. Kontrollige, et seadmes oleksid kindlasti reagentid olemas ja et seade ei oleks kahjustatud; ärge kasutage seadmeid, millel mõni reagent puudub.
4. Seadmed on mõeldud kasutamiseks koos Chorusi aparaadiga; seadme kasutusjuhendit tuleb hoolikalt järgida ja lugeda aparaadi kasutusjuhendit.
Komplekti kasutamine on võimalik ainult tarkvara uuendatud versiooniga. Veenduge, et aparaati paigaldatud tarkvara versioon vastaks sellele, mis on näidatud Diesse'i veebilehel avaldatud tabelis, või oleks sellest hilisema väljastuskuupäevaga
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollige, et Chorusi aparaat oleks õigesti seadistatud (vt Chorusi kasutusjuhendit).
6. Ärge muutke seadme käepidemel asuvat vöötkoodi, et aparaat saaks seda õigesti lugeda, ja ärge kasutage defektse sildiga seadmeid.
7. Ärge säilitage proove isesulatusrežiimiga sügavkülmikutes.
8. Defektsed vöötkoodid saab aparaati käsitsi sisestada.
9. Ärge laske seadmetel hoiustamise ega kasutamise ajal puutuda kokku tugeva valguse ega hüpokloritiaurudega.
10. Ärge kasutage hemolüüsunud, lipeemilisi või ikteerilisi proove, milles segajate kontsentratsioon on suurem kui see, mida on analüüsitud (peatükis „Analüütiline spetsiifilisus“ esitatud näidete kohaselt).
11. Ärge kasutage seadet pärast kõlblikkusaja lõppu.
12. **Veenduge, et aparaadi pesupuhvri REF 83606 paak oleks ühendatud.**

5. KOMPLEKTI KOOSTIS JA REAKTIIVIDE VALMISTAMINE

Komplektist piisab 36 analüüsiks.

DD SEADMED koos pakki, millest igaüks sisaldab kuute seadet

Kasutamine: tasakaalustage pakend toatemperatuuril, avage see ja eemaldage vajalikud seadmed; pange ülejäänud tagasi silikageeliga kotti, suruge õhk välja ja **sulgege**, vajutades sulgurile. Hoida temperatuuril 2–8 °C.



Kirjeldus:

8. positsioon: koht vöötkoodi sildile

7. positsioon: tühi

6. positsioon: kaetud *Mycoplasma pneumoniae* antigeeniga: maksimaalne kontsentratsioon 2,51 µg/ml

5. positsioon: MIKROPLAADI KAEVUKE (kattekihita)

4. positsioon: TMB SUBSTRAAT.

Koostis: 0,26 mg/ml tetrametüülbensidiin ja 0,01% H₂O₂, stabiliseeritud 0,05 mol/l tsitraatpuhvris (pH 3,8)

3. positsioon: PROOVILAHJENDI

Koostis: valgulahus, mis sisaldab 0,05% fenooli, 0,02% 5-bromo-5-nitro-1,3-dioksaani ja seerumi olemasolu näitavat indikaatorit.

2. positsioon: KONJUGAAT

Koostis: inimese IgG vastased peroksidaasiga märgistatud monoklonaalsed antikehad (max kontsentratsioon 1,5 µg/m) fosfaatpuhvris, mis sisaldab 0,05% fenooli ja 0,02% 5-bromo-5-nitro-1,3-dioksaani.

1. positsioon: TÜHI KAEVUKE, kuhu kasutaja peab kandma lahjendamata seerumi.

KALIBREERIMISLAHUS KALIBREERIMISLAHUS 1 × 0,425 ml

Koostis: inimese lahjendatud seerum, mille antikehade kontsentratsioon on teada ning mis sisaldab prokliini ja gentamütsiini. **Kasutusvalmis vedelik.**

KONTROLL + POSITIIVNE KONTROLL 1 × 0,425 ml

Koostis: inimese lahjendatud seerum, mille antikehade kontsentratsioon on teada ning mis sisaldab prokliini ja gentamütsiini. **Kasutusvalmis vedelik.**

Kalibreerimislahuse ja positiivse kontrolli mõõtmiste usaldusväärsus on tagatud mõõtestandardite jälgitavusega järgmisel viisil.

Kalibreerimislahus ja positiivne kontroll valmistatakse, lahjendades inimese antigeenide teada kontsentratsiooniga lahust vastavas stabiliseerivas lahustis. Suhteline täpne kontsentratsioonivahemik sõltub partiist ja määratakse müügile lubamise eelse kvaliteedikontrolli etapis, kasutades töökalibreerimislahuste sarja.

Töökalibreerimislahuseid valmistatakse ja analüüsitakse, kontrollides kooskõla võrdlusseerumite paneeliga, kus on antigeenide erinevad sisaldused.

VAJALIKUD VAHENDID, MIDA POLE KAASAS

- PESUPUHVER **REF** 83606
- PUHAUSLAHUS 2000 **REF** 83609
- DESINFITSEERIMISLAHUS **REF** 83604–83608
- CHORUS-I NEGATIIVNE KONTROLL / PROOVILAHJENDI **REF** 83607
- CHORUS-I / CHORUS TRIO aparaat
- Destilleeritud või deioniseeritud vesi
- Labori tavapärased klaasanumad: mõõtesilindrid, katseklaasid jne.
- Mikropipetid 50–200 µl lahuse täpseks kogumiseks
- Ühekordselt kasutatavad kindad
- Naatriumhüpokloriti lahus (5%)
- Mahutid potentsiaalselt nakkusohlikele materjalidele

6. REAKTIIVIDE SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Reaktiivid tuleb säilitada temperatuuril 2–8 °C. Ebasobival temperatuuril säilitatud reaktiivide puhul tuleb kalibreerimist korrata ja analüüsisari kontrollseerumiga valideerida (vt 9. punkt, „Katsete valideerimine“).

Kõlblikkusaja lõpp on trükitud igale komponendile ja komplekti etiketile.

Reaktiivide stabiilsus pärast avamist ja/või valmistamist on piiratud

SEADMED	kaheksa	nädalat
temperatuuril 2–8 °C		
POSITIIVNE KONTROLL	kaheksa	nädalat
temperatuuril 2–8 °C		
KALIBREERIMISLAHUS	kaheksa	
nädalat temperatuuril 2–8 °C		

7. PROOVI TÜÜP JA SÄILITAMINE

Proov koosneb veenist kogutud seerumist, mida käideldakse kõigi heade laboritavadega ette nähtud ettevaatusabinõude kohaselt. Juhendi CLSI H18-A3 alusel peavad uuritavad seerumiproovid olema enne tsentrifuugimist hüübinud; spontaanne ja täielik hüübimine toimub temperatuuril 22–25 °C tavaliselt 30–60 minuti jooksul.

Soovitav on eraldada seerum võimalikult kiiresti füüsilisest kokkupuutest rakkudega, kasutades selleks tsentrifuugimist maksimaalselt kahe tunni jooksul alates kogumisest.

Värsket seerumiproovi võib säilitada neli päeva temperatuuril 2–8 °C või külmutada pikaajaliseks säilitamiseks (vähemalt 47 kuud) temperatuuril ≤ –20 °C ja seda võib kuni kolm korda üles sulatada. Ärge hoidke proove automaatsulatusega sügavkülmutuses. Sulatatud proove tuleb enne kasutamist hoolikalt loksutada. Proovi kvaliteeti võib tugevalt mõjutada mikroobne saastumine, mis põhjustab tulemuste ebatäpsust.

Tuleb vältida tugevalt lipeemiliste, ikteeriliste, hemolüüsunud või saastunud proovide kasutamist.

Plasmaga pole analüüsi võimalik teha.

8. PROTSEDUUR

1. Avage pakend (sulguriga küljelt), võtke välja vajalik arv seadmeid ja sulgege kott ülejäänud seadmetega pärast õhu väljutamist.
2. Kontrollige seadme seisukorda jaotise „Analüütilised ettevaatusabinõud“ 1. ja 8. punkti alusel.
3. Kandke iga seadme 1. kaevukesse 50 µl uuritavat seerumit lahjendamata kujul; iga uue partii korral kasutage kalibreerimislahusega seadet.
4. Asetage seadmed Chorusi / Chorus TRIO aparati. Kalibreerige (kui see on vajalik) ja tehke analüüs, nagu on kirjeldatud Chorusi kasutusjuhendis.

9. KATSETE VALIDEERIMINE

Kasutage kontrollseerumit, et kontrollida saadud tulemuste paikapidavust. Kontrollseerumit tuleb kasutada kasutusjuhendi kohaselt. Kui aparaat annab märku, et kontrollseerumi analüüsi tulemus jääb väljapoole lubatud vahemikku, tuleb kalibreerimist korrata. Eelmised tulemused parandatakse automaatselt.

Kui kontrollseerumi analüüsi tulemus jääb endiselt lubatud vahemikust väljapoole, võtke ühendust teadusliku toega.

Tel: 00 3905 7731 9554

E-post: scientificsupport@diesse.it

10. TULEMUSTE TÕLGENDAMINE

Chorusi / Chorus TRIO aparaat annab poolkvantitatiivse tulemuse (ühikuga AU/ml), mis arvutatakse seadmes salvestatud, partiist sõltuva graafiku alusel.

Immuunsuse astet saab uuritava seerumiga saadud tulemuse põhjal tõlgendada järgmiselt:

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

EI OLE IMMUUNNE: kui kontsentratsioon on < 12 AU/ml

EBASELGE / MITMETI TÕLGENDATAV: kui kontsentratsioon on vahemikus 12–18 AU/ml

Sisaldus	Tulemuste tõlgendamine		CHORUS-iga saadud tulemus
> 40 AU/ml	Suur sisaldus	Sisaldus, mis vastab hiljutisele või praegusele <i>M. pneumoniae</i> nakkusele	Positiivne
≤ 40 AU/ml > 18 AU/ml	Mõõdukas sisaldus	Tõlgendamine on võimalik ainult uue proovi võtmise korral 8–15 päeva pärast.	Positiivne
≤ 18 AU/ml ≥ 12 AU/ml	Väike sisaldus		Ebaselge
< 12 AU/ml	Ebaoluline sisaldus		Negatiivne

Kui aparadi ekraanile ilmub märk „>“, on antikehade sisaldus üle 100 AU/ml; sel juhul lahjendage proovi proovilahjendi / negatiivse kontrolliga [REF] 83607 (nt suhtes 1 : 3) ja korrake analüüsi. Tulemus tuleb korrutada kasutatud lahjendusteguriga.

Kui tulemus on ebaselge / mitmeti tõlgendatav, korrake analüüsi. Kui see jääb ebaselgeks / mitmeti tõlgendatavaks, võtke uus seerumiproov.

11. PROTSEDUURI PIIRANGUD

Negatiivne tulemus ei välista mükoplasma-nakkust: kliinilise kahtluse korral võtke 15 päeva pärast uus proov.

Nakkuse ägeda etapi ajal kogutud seerumiproovid võivad anda positiivse tulemuse ainult IgM tüüpi antikehade suhtes. Mükoplasma IgM tüüpi antikehade sisaldust on soovitatav määrata *Mycoplasma pneumoniae* IgM analüüsi komplektiga (REF 81035).

Alternatiiv on paralleelselt uurida teist, 8–14 päeva hiljem saadud seerumiproovi IgG tüüpi antikehade sisalduse suurenemise määramiseks.

Analüüsi tulemust tuleb kasutada koos haigusloo hindamisest pärineva ja muude diagnostiliste protseduuridega saadud teabega.

12. KALIBREERIMISVAHEMIK

Kalibreerimisvahemik: 0–100,0 AU/ml.

> 100,0 AU/ml proovide puhul korrake analüüsi, lahjendades proovi eelnevalt negatiivse kontrolli / proovilahjendiga (PF83607 – ei ole komplektiga kaasas).

13. ANALÜÜTILINE SPETSIFIILISUS

Võimalike segavate ühendite/tegurite, näiteks C-reaktiivse valgu, bilirubiini, reumatoidfaktori, hemolüüsi ja triglütseriidide esinemine seerumiproovis ei häiri analüüsimist.

14. MEETODITE VÕRDLUS

Chorusi komplekti ja teise turul kättesaadava meetodiga analüüsiti 61 proovi, millest 42 olid positiivsed ning 19 negatiivsed. Vastuolulisi tulemusi andnud proovide puhul kasutati standardmeetodina *western-blot* analüüsi. Ebaselge tulemuse andnud proove käsitleti positiivseks. Diesse'i komplekt andis kaks valepositiivset tulemust.

Tulemuste kokkuvõte on esitatud järgmises tabelis

		Standardmeetod		
		+	–	Kokku
Diesse	+	40	2	42
	–	0	19	19
	Kokku	40	21	61

Tundlikkus 100,0 % 95% CI: 91,2; 100,0

Spetsiifilisus 90,5 % 95% CI: 71,1; 97,3

Positiivne ennustuväärtus (PEV) = 95,2; 95% CI: 89,9; 100,0

Negatiivne ennustuväärtus (NEV) = 100,0; 95% CI: 100,0; 100,0

15. TÄPSUS JA KORRATAVUS

Tabel 1. Analüüsisarja sisene täpsus

	Korduste arv	Keskmine (AU/ml)	Standardhälve	Variatsioonikordaja (%)
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. Analüüsisarja ja partii väline täpsus

Proov	Keskmine (AU/ml)			Keskmine	Standardhälve	Variatsioonikordaja (%)
	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

16. VIITED

1. G. B. Wisdom, Enzyme-Immunoassay. Clin Chem, 1976, 22, 1243.
2. G. Layh-Schmitt, Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology, 2000, 146, lk 741–747.
3. S. Rotten, Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol Rev, 2003, 83, lk 417–432.
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, lk 165–171.
5. E. Jacobs, Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol Chem, detsember 1988, 369, lk 1295–1299.
6. CLSI H18-A3. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline. Kolmas väljaanne. Kõide 24, number 38.

17. OHUJUHTUMITEST TEATAMINE

Kui Euroopa Liidu turu piirkonnas on aset leidnud mõni selle seadmega seotud ohujuhtum, teatage sellest viivitamatult tootjale ja oma liikmesriigi pädevale asutusele.

18. OHUTUSE JA TOIMIVUSE KOKKUVÕTE

See dokument, mis tehakse kättesaadavaks andmebaasis EUDAMED (kui see on kasutusvalmis ja töötab), on osa tehnilisest dokumentatsioonist ja seda saab taotleda tootjalt.

	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 κατασκευής Data de fabrico Data fabricației Datum der Herstellung Valmistamise kuupäev Data produkcji
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Use By Utilizar antes de Utilizzare entro Použití do Upotrijebiti do Използване в рамките на Sunaudoti per Uporabiti do	FR EL PT RO DE ET PL	Utilisation d'ici Χρήση εντός Utilizar até A se utiliza până la data de Verwendung innerhalb Kölblik kuni Data minimalnej trwałości
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Caution, consult accompanying documents Atención, véanse las instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Pozor, nahlédněte do průvodních dokumentů 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 le mode d'emploi Προσοχή, ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης Atenção, ver instruções de utilização Atenție, consultați instrucțiunile de utilizare Achtung, siehe Gebrauchsanweisung Tähelepanu! Vt kaasasolevaid dokumente Uwaga, patrz instrukcja obsługi
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Manufacturer Fabricante Fabbicante Výrobce Proizvođač Производител Gamintojas Proizvajalec	FR EL PT RO DE ET PL	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Producător 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 Obsahuje dostatečné množství pro <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 » essais Επαρκές περιεχόμενο για "n" δοκιμές Conteúdo suficiente para "n" ensaios Conținut suficient pentru „n” teste Ausreichender Inhalt für „n“ Tests Piisav kogus n katseks Zawiera wystarczającą ilość do „n” próbek
	EN ES IT CS HR BG LT SL	Temperature limitation Límites 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 Όρια θερμοκρασίας Limites de temperatura Limite de temperatură Temperaturgrenzwerte Temperatuurpiirang 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 Přečtěte si 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	Voir le mode d'emploi Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης Ver instruções de utilização Consultați instrucțiunile de utilizare Siehe Gebrauchsanweisung 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	Numéro de catalogue Αριθμός καταλόγου Número de catálogo Număr catalog Katalognummer Katalooginumber Numer katalogowy
	EN ES IT CS HR	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device Productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i> Medicinski proizvod za dijagnostiku <i>in vitro</i>	FR EL PT RO DE	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> διαγνωστική ιατρική συσκευή Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i> Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät

	BG LT SL	Диагностично медицинско изделие ин витро In vitro diagnostikos medicinos priemonė Diagnostični medicinski pripomoček in vitro	ET PL	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	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 Κωδικός παρτίδας Código do lote Codul lotului Chargen-Code Partii kood Kod partii
	IT EN CS DE HR BG LT SL	Marcatura CE di conformità CE marking of conformity Označení shody CE CE-Kennzeichnung CE oznaka sukladnosti Маркировка за съответствие CE EB atitikties ženklas Oznaka o skladnosti CE	ES EL FR PT RO ET PL	Marcado de conformidad CE Σήμανση συμμόρφωσης CE Marquage de conformité CE Marcação de conformidade CE Marcajul de conformitate CE CE- vastavusmārgis Oznaczenie zgodności CE