

CHORUS

Legionella pneumophila IgM


DIESSE
REF 81093
REF 81093/12

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	5





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgM anti *Legionella pneumophila* nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

CHORUS

Legionella pneumophila IgM
Per la determinazione qualitativa degli anticorpi
IgM anti *Legionella pneumophila*

Solo per uso diagnostico *in vitro*

2. INTRODUZIONE

La legionellosi è una malattia infettiva grave, a letalità elevata, maggiore per le infezioni nosocomiali che per quelle comunitarie. La letalità totale è del 5-15% e può raggiungere il 30-50% nei nosocomi e il 70-80% nei pazienti in condizioni cliniche precarie o trattati tardivamente. Legionellosi è la definizione di tutte le forme morbose causate da batteri gram-negativi del genere *Legionella*. La specie più frequentemente coinvolta nelle patologie umane è la *Legionella pneumophila*, anche se altre specie sono state isolate. La più severa forma di legionellosi è la cosiddetta Malattia dei Legionari, caratterizzata da polmonite acuta che si manifesta dopo 2-10 giorni dall'esposizione all'agente infettivo. Un altro caratteristico quadro clinico è la Febbre di Pontiac, una affezione febbrile acuta extrapolmonare. Esistono anche forme di infezione subcliniche, con assenza di sintomi, ed evidenziabili solo per riscontrata sierconversione.

Le Legionelle sono ampiamente diffuse in natura, dove si trovano associate principalmente alla presenza di acqua (superfici lacustri e fluviali, sorgenti termali, falde idriche ed ambienti umidi in genere). Da queste sorgenti la *Legionella* può colonizzare gli ambienti idrici artificiali (reti cittadine di distribuzione dell'acqua potabile, impianti idrici dei singoli edifici, impianti di climatizzazione, piscine, fontane, ecc.) che agiscono come amplificatori e disseminatori del microrganismo. L'infezione può colpire tutta la popolazione. Sono considerati più a rischio i soggetti di sesso maschile, di età avanzata, fumatori, consumatori di alcool, affetti da malattie croniche (broncopneumopatie ostruttive, malattie cardiovascolari e renali, diabete, ecc.) e con immunodeficienza acquisita in seguito ad interventi terapeutici (trapianti d'organo, terapia con steroidi e antitumorali, ecc.) o infezione da HIV.

Di tutti i casi di legionellosi riportati, l'80% sono attribuibili alla *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 e la sierconversione verso questo sierogruppo è generalmente considerato come altamente predittiva per la malattia.

La diagnosi sierologica di *Legionella pneumophila* effettuata al primo prelievo, all'esordio della malattia, deve essere necessariamente confermata da un incremento del titolo anticorpale in prelievi successivi al primo, effettuati alla terza settimana e dopo 6-8 settimane, in quanto indagini cliniche hanno dimostrato una comparsa talvolta tardiva di anticorpi specifici, anche a livelli significativi, e la possibilità di presenza di anticorpi anti-*L. pneumophila* in assenza di legionellosi.

La risposta anticorpale all'infezione è generalmente una miscela di IgA, IgM, IgG. La determinazione della presenza di IgM può aiutare per una diagnosi di infezione acuta anche se le IgM possono persistere per un lungo periodo di tempo dall'infezione.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Il test ELISA sfrutta la reazione tra anticorpi presenti nel campione in esame e l'antigene immobilizzato su fasi solide di polistirolo.

L'antigene, ottenuto da coltura di *Legionella pneumophila* sierotipo 1 ed inattivato con formaldeide, viene legato alla fase solida. Per incubazione con siero umano diluito in un diluente bloccante le IgG, le IgM 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 IgM 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 allo strumento Chorus.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.

2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova.
3. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
4. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
 - a) Il coniugato ed i controlli contengono fenolo
 - b) Il substrato è acido
 Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
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 i guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

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

12. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
13. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 81093).

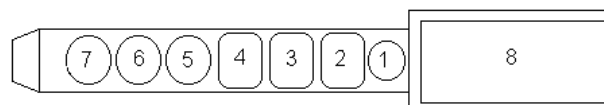
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 81093/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81093).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81093/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con antigene Legionella pneumophila sierotipo 1.

Posizione 5: POZZETTO

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 anti IgG umane, fenolo 0.05%, Bronidox 0.02% ed un indicatore per rivelare la presenza di siero.

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 mL

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

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

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

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 – 83608

- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT
REF 83607
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti mono-uso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

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 CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio. Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C. 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 o inquinati non possono essere utilizzati.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche punti 1 e 8.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero non diluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus. 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 limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus fornisce un risultato in indice (rapporto tra il valore in OD del campione e quello del cut-off) memorizzato dallo strumento.

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

POSITIVO: quando l'indice è > 1.1

NEGATIVO: quando l'indice < 0.9

DUBBIO/EQUIVOCO: indice compreso tra 0.9 e 1.1

In caso di risultato dubbio/equivoco ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio/equivoco, ripetere il prelievo dopo 1-2 settimane.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

I risultati del dosaggio devono essere interpretati con cautela e convalidati insieme ad altri provenienti dalla valutazione clinica e da altre indagini diagnostiche.

Sieri di pazienti che si trovano in una fase precoce o tardiva della malattia, potrebbero dare un risultato ripetutamente negativo vicino al valore soglia del Cut-Off. In tali casi si raccomanda di verificare il risultato, dosando un nuovo campione prelevato ad un intervallo di 7-10 giorni dal primo.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 47 campioni di sieri contenenti potenziali interferenti:

Fattore Reumatoide (n= 6)
Bilirubina alto titolo (n= 3)
Trigliceridi (n= 12)
PCR (n= 3)
Emolizzati (n= 23)

Sono stati testati 27 sieri positivi verso altre patologie respiratorie e non:

Mycoplasma pneumoniae (n= 11)
Chlamidia pneumoniae (n= 7)
Helicobacter pylori (n= 1)
Clostridium Tetani (n=2)
TBC (n= 2)
Yersinia enterocolitica (n= 2)
Epstein-Barr (n= 2)

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

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

In una sperimentazione 130 campioni sono stati analizzati con kit Diesse e con altro kit del commercio (ELISA Vircell); i campioni discordanti sono stati confermati usando un test in immunofluorescenza del commercio (Focus IFA test).

Di seguito sono schematizzati i risultati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Totale	18	112	130

Sensibilità Diagnostica: 100.00 % CI_{95%}: 82.41 – 100.00

Specificità Diagnostica: 95.54 % CI_{95%}: 92.42 – 99.08

14. PRECISIONE

PRECISIONE ALL'INTERNO DELLA SEDUTA

	Risultati (Index)			Media	DS	CV%
LGM 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGM 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGM 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

PRECISIONE TRA SEDUTE

	Risultati (Index)			Media	DS	CV%
	Giorno 1	Giorno 2	Giorno 3			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.
2. A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.
3. B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of *Legionella pneumophila*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9) : 764-7.

4. N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen J. Immunol. Methods 93: 77-81
5. M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a *Legionella pneumophila* specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1 : 5-9.
6. L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of *Legionella* Infection Clin. Infect. Dis. 36:64-69

16. SPIEGAZIONE DEI SIMBOLI

	Data di fabbricazione
	Scadenza
	Non riutilizzare
	Attenzione, consultare il libretto di istruzioni
	Fabbricante
	Confezione sufficiente per <n> test
	Limiti di temperatura
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Rischio biologico
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Numero di lotto

Fabbricato da
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of IgM-class antibodies to *Legionella pneumophila* in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

CHORUS Legionella pneumophila IgM For the Qualitative Determination of IgM Antibodies to *Legionella pneumophila*

For In Vitro Diagnostic Use Only

2. INTRODUCTION

Legionnaire's disease is a serious infectious disease with a high mortality rate. Legionellosis is the definition given to all forms of disease caused by gram-negative bacteria of the *Legionella* genus. The total mortality rate is 5-15% which can reach 30-50% in hospital populations and 70-80% in patients in a serious clinical state or if treated late. The species most frequently involved in human pathologies is *Legionella pneumophila*, although other species have been isolated. The most serious form of *Legionella* infection is the so-called Legionnaire's disease, characterized by acute pneumonia which becomes evident 2-10 days after contact with the bacteria. Another characteristic clinical picture is Pontiac fever, an acute extra-pulmonary infection. There are also forms of subclinical infection without symptoms, which can only be detected by demonstrating serum-conversion.

Legionellae are widespread in nature, where they are generally found in the presence of water (lakes, rivers, thermal springs, water-bearing layers, and damp areas in general). Starting from these sources, *Legionellae* can colonize artificial water supplies (civic distribution systems for drinking water, water systems of individual buildings, air-conditioning plants, swimming pools, fountains, etc.), which act as amplifiers and disseminators of the microorganism. The infection can affect the whole population. The subjects considered to be most at risk are elderly males who are smokers, consumers of alcohol, affected by chronic diseases (obstructive bronchopulmonary infections, cardiovascular and renal disorders, diabetes, etc.), and those with acquired immunodeficiency following therapy (organ transplant, treatment with steroids and anti-tumoral drugs, etc.), or affected by HIV.

80 % of all the cases of legionellosis reported can be attributed to *Legionella pneumophila* serotype 1, and serum conversion is

generally considered highly predictive of the infection. Serological diagnosis of *Legionella pneumophila* after the first sample tested, at the beginning of the disease, must be confirmed by an increase in the positive response in subsequent samples tested three weeks later and after 6-8 weeks, in as far as clinical investigations have shown that significant levels of specific antibodies sometimes appear late, and there is the possibility of anti-*Legionella pneumophila* antibodies in the absence of legionellosis.

The antibody response to infection is generally a mixture of IgA, IgM and IgG. Detection of the presence of IgM can support the diagnosis of an acute infection even if the IgM may remain in circulation for a long period after infection.

3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The test is based on the ELISA principle (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

The antigen, which is obtained by culturing *Legionella pneumophila* serotype 1 and inactivated with formaldehyde, is bound to the solid phase. The specific IgM and IgG-class antibodies 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 IgM monoclonal antibodies conjugated with horseradish peroxidase) is performed. The conjugate which has not been bound is eliminated and the peroxidase substrate added.

The blue color 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 instruments.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

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

Waste disposal: the used devices containing materials of human origin must be handled as infectious material and disposed of according to the full requirements of this issue.

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 instrument.
4. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:
 - a) The conjugate contains phenol

b) The substrate is acid

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

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 minutes 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) before use; use within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent.
4. The devices are for use with the Chorus instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
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 vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed samples or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
12. Resuspend the freeze-dried calibrator and control serum homogeneously according to the volumes reported on the labels.
13. Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
14. Do not use the device after the expiry date.

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 81093).

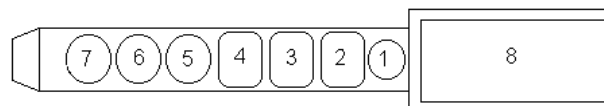
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81093/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 81093).

2 packages each containing 6 devices (REF 81093/12).

Description of device:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with *Legionella pneumophila* serotype 1 antigen

Position 5: MICROPLATE WELL

Uncoated

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 anti human IgG antibody, phenol 0.05%, Bronidox 0.02% and an indicator to reveal the presence of the serum.

Position 2: CONJUGATE

Contents: monoclonal antibodies anti-human IgM labelled 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

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 mL

Content: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin. Liquid ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 mL

Content: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin. Liquid ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER (REF 83606)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 – 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Distilled or deionized water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution

- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C and can be thawed a maximum of 3 times. 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 cannot be used. The test cannot be applied to plasma.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 6, Analytical Warning, 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 instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Chorus Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus instrument expresses the result as an INDEX (ratio between the OD value of the sample and that of the Cut-off).

The test serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the ratio is > 1.1

NEGATIVE: when the ratio is < 0.9.

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.9 and 1.1

In the case of a doubtful/equivocal result, repeat the test. If the test remains doubtful/equivocal, collect a new sample after 1-2 weeks.

11. LIMITATIONS

The test results should be interpreted with caution and used in conjunction with information available from the clinical evaluation and other diagnostic procedures. Serum samples from patients that are in an early or late stage of this disease may give repeatedly negative results close to the base level of the cut off. In such a case it is recommendable to check the result by doing the test with a second sample obtained 7-10 days later than the first one.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

The following 47 samples containing potentially interfering substances were tested:

Rheumatoid factor (n=6)
Bilirubin high titer (n=3)
Triglycerides (n=12)
C-Reactive Protein (n=3)
Hemolyzed (n=23)

The following 27 sera, positive to other diseases, were tested:

Mycoplasma pneumoniae (n=11)
Chlamydia pneumoniae (n=7)
Helicobacter pylori (n=1)
Clostridium Tetani (n=2)
TBC (n=2)
Yersinia enterocolitica (n=2)
Epstein-Barr (n=2)

The presence in the tested serum of the interfering substances listed above did not alter the results of the test.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

The diagnostics sensitivity and specificity were tested analyzing 130 samples with DIESSE kit as well as with another ELISA commercial kit (ELISA Viracell). The discordant samples were tested using Focus IFA test.

Below are the schematized data of the trial:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Total	18	112	130

Diagnostic Sensitivity: 100.00 % CI_{95%}: 82.41 – 100.00

Diagnostic Specificity: 95.54 % CI_{95%}: 92.42 – 99.08

14. PRECISION

WITHIN-RUN PRECISION

	Results (Index)			Mean	SD	CV%
LGM 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGM 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGM 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

BETWEEN-RUNS PRECISION

	Results (Index)			Mean	SD	CV%
	Day 1	Day 2	Day 3			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

15. REFERENCES

1. G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.
2. A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.
3. B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of *Legionella pneumophila*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9): 764-7.
4. N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen J.Immunol. Methods 93: 77-81
5. M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a *Legionella pneumophila* specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1: 5-9.
6. L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of Legionella Infection Clin.Infect. Dis. 36:64-69

16. GLOSSARY OF LABELING SYMBOLS

	Date of manufacture
	Use By
	Do not reuse.
	Caution, consult accompanying documents.
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation
	Consult instructions for use
	Biological risks
	Catalog number
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Batch code

Manufactured by
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda sloužící ke kvantitativnímu stanovení protilátek třídy IgM proti *Legionella pneumophila* v lidském séru, za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus a Chorus TRIO.

CHORUS Legionella pneumophila IgM Kvantitativní stanovení IgM protilátek proti *Legionella pneumophila*

Určeno pouze pro *In Vitro* diagnostiku

2. ÚVOD

Legionářská nemoc je závažné infekční onemocnění s vysokou mírou úmrtnosti. Jako legionelózu definujeme všechny formy onemocnění způsobené gramnegativní bakterií rodu *Legionella*. Celková míra mortality je 5–15 %, hodnota, která může dosahovat 30–50 % u nemocniční populace a 70–80 % u pacientů ve vážném klinickém stavu a pacientů, u nichž byla léčba nasazena pozdě. Nejčastěji nacházeným druhem u patologie člověka je *Legionella pneumophila*, ačkoliv byly izolovány i druhy jiné. Nejvážnější formou legionelové infekce je tzv. legionářská nemoc, pro kterou je charakteristická akutní pneumonie objevující se 2–10 dní po kontaktu s bakterií. Dalším typickým klinickým obrazem je Pontiac horečka, akutní mimoplicní infekce. Existují také formy subklinické infekce bez příznaků, které lze detekovat pouze na základě sérokonverze. *Legionely* jsou velmi rozšířené, především tam, kde se vyskytují vodní plochy (jezera, řeky, termální prameny, vrstvy s výskytem vody a obecně vlhké oblasti). Počínaje těmito zdroji mohou legionely kolonizovat umělé vodní zdroje (městské distribuční systémy pitné vody, vodní systémy jednotlivých budov, klimatizační zařízení, bazény, fontány atd.), které pak fungují jako zesilovače a roznášče tohoto mikroorganismu. Infekce může zasáhnout celou populaci. Mezi nejrizikovější osoby patří starší muži, kteří kouří, konzumují alkohol a jsou postiženi chronickými onemocněními (obstrukční bronchopulmonární infekce, kardiovaskulární a renální poruchy, diabetes atd.), a dále lidé se získaným imunodeficitem následkem léčby (transplantace orgánu, léčba steroidy a protinádorovými léky atd.) nebo postižení HIV.

80% všech případů legionelózy má na svědomí *Legionella pneumophila* serotyp 1 a konverze séra se obecně považuje za vysoce prediktivní známku infekce. Serologickou diagnózu *Legionella pneumophila* po prvním testovaném vzorku na

začátku onemocnění je nutné potvrdit prostřednictvím nárůstu pozitivní odezvy dalších vzorků, testovaných 6–8 týdnů později – klinický výzkum totiž ukázal, že se významný nárůst specifických protilátek někdy objevuje pozdě a protilátky proti *Legionella pneumophila* se někdy objevují také při absenci legionelózy.

Odezvou na infekci bývá obecně směs protilátek třídy IgA, IgM a IgG. Detekované IgM mohou sloužit jako podklad diagnózy akutní infekce, i když IgM mohou zůstat v oběhu i dlouhou dobu po infekci.

3. PRINCIP ZKOUŠKY

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

Antigen, získaný kultivací *Legionella pneumophila* serotypu 1 a inaktivovaný formaldehydem, se naváže na pevnou fázi. Prostřednictvím inkubace s naředěným lidským sérem se na antigen naváží specifické IgM a IgG.

Po promytí, při kterém dojde k eliminaci bílkovin, které nereagovaly, se provede inkubace s konjugátem (anti-lidské monoklonální IgM protilátky konjugované s křenovou peroxidázou). Dochází k odstranění nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát.

Vzniklé modré zabarvení je úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných v testovaném séru.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagencie nutné k provedení testu pomocí zařízení Chorus.

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

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

Likvidace odpadu: S použitými nástroji obsahujícími materiál lidského původu je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat tak, jak je v tomto případě vyžadováno.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS si důkladně umyjte ruce.
4. Následující reagencie obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých látek:
 - a) Konjugát obsahuje fenol.
 - b) Substrát obsahuje kyselinu.

Přijde-li jakákoliv reagencie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.

5. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1,0 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
6. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1,0% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevracíte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

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

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 81093).

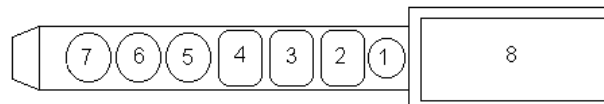
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 81093/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 81093).

2 balení po 6 nástrojích (REF 81093/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Místo pro štítek s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Potažená antigenem *Legionella pneumophila* serotypu 1.

Pozice 5: MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Nepotažená

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetrametylbenzidín 0.26 mg/ml a 0.01% H₂O₂ stabilizovaný v 0.05 mol/l citrátovém pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

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

Pozice 2: KONJUGÁT

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA,

do níž obsluha umístí neředěné sérum

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.175 mL

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

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.425 mL

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

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8°C
POZ. KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8°C

7. SBĚR VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

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

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

Test není možné aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

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

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus vyjadřuje výsledek jako INDEX (poměr mezi OD hodnotou vzorku a cut-off hodnotou).

Testované sérum se interpretuje takto:

POZITIVNÍ: je-li poměr > 1.1.

NEGATIVNÍ: je-li poměr < 0.9.

SPORNÉ/NEJASNÉ: pro všechny hodnoty mezi 0.9 a 1.1.

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test opakujte. Zůstává-li sporný/nejednoznačný i nadále, seberte za 1–2 týdny vzorek nový.

11. OMEZENÍ

Výsledky testu je nutné interpretovat opatrně a použít v kombinaci s informacemi získanými z klinického hodnocení a jiných diagnostických procedur. Vzorky sér pacientů, kteří jsou v raném nebo pozdním stádiu této nemoci, mohou opakovaně poskytovat negativní výsledky blízkí se spodní úrovni cut-off. V takovém případě doporučujeme zkontrolovat výsledek testu odebráním a otestováním druhého vzorku za 7–10 dní po vzorku prvním.

12. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 47 vzorků obsahujících potenciálně rušivé látky:

Revmatický faktor (n = 6)
Bilirubin, vysoký titr (n = 3)
Triglyceridy (n = 12)
C-reaktivní protein (n = 3)
Hemolyzované (n = 3)

Bylo testováno následujících 27 sér pozitivních na jiná onemocnění:

Mycoplasma pneumoniae (n = 11)
Chlamydia pneumoniae (n = 7)
Helicobacter pylori (n = 1)
Clostridium Tetani (n = 2)
TBC (n = 2)
Yersinia enterocolitica (n = 2)
Epstein-Barr (n = 2)

Přítomnost výše uvedených rušivých substancí v testovaných sérech nezměnila nijak výsledky testu.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFIČNOST

Diagnostická citlivost a specifičnost byla testována na základě analýzy 130 vzorků, jednak touto soupravou DIESSE, jednak dalším komerčním ELISA testem (ELISA Vircell). Neshodné výsledky byly testovány pomocí Focus IFA testu.

Ve schématu níže naleznete data provedené zkoušky:

Reference

		+	-	Celkem
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Celkem	18	112	130

Diagnostická citlivost: 100.00 % CI_{95%}: 82.41–100.00
 Diagnostická specifická: 95.54 % CI_{95%}: 92.42–99.08

14. PŘESNOST

PŘESNOST V RÁMCI MĚŘENÍ

	Výsledky (index)			Průměr	Stand. odchylka	CV %
LGM 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGM 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGM 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

PŘESNOST MEZI MĚŘENÍMI

	Výsledky (index)			Prům.	Stand. odchylka	CV %
	Den 1	Den 2	Den 3			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

15. POUŽITÁ LITERATURA

1. G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.
2. A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.
3. B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of *Legionella pneumophila*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9): 764-7.
4. N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen J. Immunol. Methods 93: 77-81
5. M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a *Legionella pneumophila* specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1: 5-9.
6. L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of Legionella Infection Clin. Infect. Dis. 36:64-69

16. GLOSÁŘ POUŽITÝCH SYMBOLŮ

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

Vyrobil
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung der Anti-*Legionella pneumophila* IgM-Antikörper im Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

CHORUS

Legionella pneumophila IgM

Zur qualitativen Bestimmung der Anti-*Legionella pneumophila*-IgM-Antikörper

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

2. EINLEITUNG

Die Legionellose ist eine schwere Infektionskrankheit mit hoher Letalität. Letztere ist häufiger bei Nosokomial-Infektionen als bei ambulant erworbenen Infektionen zu beobachten. Die Gesamtletalität beträgt 5–15 % und kann bei Nosokomial-Infektionen 30–50 % und bei Patienten mit prekärem Gesundheitszustand oder bei spät behandelten Patienten auf 70–80 % ansteigen. Legionellose ist die Bezeichnung aller krankhaften Formen, die durch gramnegative Bakterien der Gattung *Legionella* verursacht werden. Die Art, die am häufigsten eine Rolle bei menschlichen Pathologien spielt, ist *Legionella pneumophila*, obwohl auch andere Arten isoliert wurden. Die schwerste Form der Legionellose ist die so genannte Legionärskrankheit, die sich 2–10 Tage nach der Exposition mit dem infektiösen Erreger durch eine akute Pneumonie äußert. Ein weiteres charakteristisches klinisches Erscheinungsbild ist das Pontiac-Fieber, eine akute fieberhafte Erkrankung ohne Pneumonie. Es gibt auch subklinische Formen der Infektion ohne Symptome, die nur durch eine festgestellte Serokonversion nachgewiesen werden können.

Die Legionellen sind in der Natur weit verbreitet, hauptsächlich an Orten, an denen Wasser vorhanden ist (See- und Flussflächen, Grundwasser und Feuchtgebiete im Allgemeinen). Ausgehend von diesen Quellen können die Legionellen künstliche Wassereinrichtungen kolonisieren (Trinkwasserversorgungsnetze in Städten, Wasseranlagen einzelner Gebäude, Klimaanlage, Schwimmbäder, Brunnen, usw.), die als Verstärker und Verbreiter des Mikroorganismus dienen. Die Infektion kann die gesamte Bevölkerung treffen. Ein höheres Risiko tragen Männer, Menschen fortgeschrittenen Alters, Raucher, Alkoholiker, Menschen mit chronischen

Krankheiten (obstruktive Bronchopneumopathien, kardiovaskuläre und renale Erkrankungen, Diabetes, usw.) und Menschen mit erworbener Immundefizienz nach therapeutischen Eingriffen (Organtransplantationen, Therapie mit Steroiden, antitumorale Therapie, usw.) oder HIV-Infizierte. Von allen gemeldeten Legionellose-Fällen können 80 % dem Typ *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 zugeordnet werden und die Serokonversion zu dieser Serogruppe gilt als hoch prädiktiv für die Krankheit.

Die serologische Diagnostik von *Legionella pneumophila* im Zuge der ersten Entnahme bei Krankheitsbeginn, muss notwendigerweise von einem Anstieg der Antikörper in nachfolgenden Entnahmen (in der dritten Woche und nach 6–8 Wochen) bestätigt werden, weil klinische Untersuchungen manchmal ein spätes Auftreten spezifischer Antikörper auch in großer Anzahl sowie die Möglichkeit einer Präsenz von Anti-*L. pneumophila*-Antikörpern auch bei Fehlen einer Legionellose gezeigt haben.

Die Antikörperreaktion ist normalerweise ein Gemisch aus IgA-, IgM- und IgG-Antikörpern. Die Bestimmung der Präsenz von IgM-Antikörpern kann bei der Diagnostik der akuten Infektion hilfreich sein, auch wenn die IgM-Antikörper über einen langen Zeitraum nach der Infektion vorhanden sein können.

3. TESTPRINZIP

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

Der ELISA-Test nutzt die Reaktion zwischen den in der untersuchten Probe vorhandenen Antikörpern und dem auf Festphasen aus Polystyrol fixierten Antigen.

Das aus einer *Legionella pneumophila* Serotyp 1 Kultur gewonnene und mit Formaldehyd inaktivierte Antigen wird an die Festphase gebunden. Durch die Inkubation mit Humanserum, das mit einem Verdünnungsmittel versetzt wurde, das die IgG-Antikörper blockiert, binden die spezifischen IgM-Antikörper an das Antigen.

Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen Anti-human-IgM-Antikörpern.

Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasubstrat hinzugefügt.

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

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus Laboranalysator durchführen zu können.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE *IN-VITRO*- DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das mit FDA zugelassenen Methoden sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 und Anti-HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann,

muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben und während des Tests Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Die Hände nach Beendigung des Tests sorgfältig waschen.
4. Die folgenden Reagenzien enthalten geringe Konzentrationen schädlicher oder reizender Substanzen:
 - a) Das Konjugat und die Kontrollen enthalten Phenol
 - b) Das Substrat ist sauer

Wenn ein Reagenz mit der Haut oder mit den Augen in Berührung kommt, diese mit reichlich Wasser spülen.
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese

Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.

5. Kontrollieren, ob der Chorus Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Chorus Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden.
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Stark hämolytische oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
11. Vor dem Einsetzen des Testmoduls in den Chorus Laboranalysator sicherstellen, dass sich in der Reaktionsvertiefung keine Fremdkörper befinden.
12. Das zu untersuchende Serum (50 µl) in die Vertiefung 1 des Testmoduls pipettieren (siehe Abbildung).
13. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen (REF 81093).

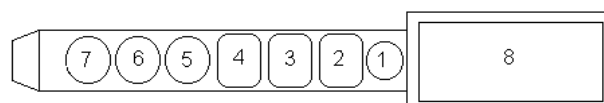
Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen (REF 81093/12).

DD TESTMODULE

6 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81093).

2 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81093/12).

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG, die mit dem Antigen von *Legionella pneumophila* Serotyp 1 sensibilisiert wurde

Position 5: VERTIEFUNG
nicht sensibilisiert

Position 4: TMB SUBSTRAT
Inhalt: 0.26 mg/ml Tetramethylbenzidin und 0.01 % H₂O₂, stabilisiert in Citratpuffer 0.05 mol/l (pH 3.8)

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN
Inhalt: Proteinlösung mit Anti-human-IgG-Antikörpern, 0.05% Phenol, 0.02% Bronidox und einem Indikator, der die Präsenz von Serum erfasst

Position 2: KONJUGAT
Inhalt: Peroxidase-markierte monoklonale Anti-IgM-Antikörper in Phosphatpufferlösung mit 0.05% Phenol und 0.02% Bronidox
Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener das unverdünnte Serum füllen

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.175 mL

Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin, flüssig, gebrauchsfertig

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.425 mL

Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin. Flüssig, gebrauchsfertig

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

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

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

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

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

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird. Das frische Serum kann

bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei -20 °C eingefroren. Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden. Nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen. Durch eine mikrobiologische Kontamination kann die Qualität der Probe stark beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann. Stark lipämische, ikterische oder kontaminierte Proben können nicht verwendet werden.

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, Punkte 1 und 8, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu untersuchenden, unverdünnten Serums geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

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

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

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

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus Laboranalysator liefert ein Ergebnis als Index (Verhältnis zwischen dem Messwert der OD der Probe und dem des Cut-off), der vom Analysator gespeichert wird.

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: Index >1.1
 NEGATIV: Index <0.9
 GRAUZONE/MEHRDEUTIG: Index zwischen 0.9 und 1.1

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt mehrdeutig ist. Sollte das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig liegen, die Blutabnahme nach 1-2 Wochen wiederholen.

11. GRENZEN DES TESTS

Die Ergebnisse der Mengenbestimmung müssen mit Vorbehalt interpretiert und zusammen mit anderen Daten der klinischen Auswertung und anderen diagnostischen Untersuchungen bestätigt werden.

Seren von Patienten, die sich in einem sehr frühen oder späten Stadium der Krankheit befinden, könnten ein wiederholt negatives Ergebnis in der Nähe des Schwellenwerts des Cut-off zeigen. In diesen Fällen wird empfohlen, das Ergebnis zu prüfen, indem eine neue, 7–10 Tage nach der ersten Probe entnommene Probe analysiert wird.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 47 Serumproben mit potentiellen Interferenten getestet:

Rheumafaktor (n=6)
Hoher Bilirubinwert (n=3)
Triglyceride (n=12)
PCR (n=3)
Hämolytische Proben (n=23)

Es wurden 27 Seren getestet, die gegen andere Pathologien und Pathologien der Atemwege positiv waren:

Mycoplasma pneumoniae (n=11)
Chlamidia pneumoniae (n=7)
Helicobacter pylori (n=1)
Clostridium tetani (n=2)
TBC (n=2)
Yersinia enterocolitica (n=2)
Epstein-Barr (n=2)

Die Präsenz der oben genannten Interferenten im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

13. DIAGNOSTISCHE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Bei einem Versuch wurden 130 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz (ELISA Viracell) analysiert; die nicht übereinstimmenden Proben wurden unter Verwendung eines im Handel erhältlichen Immunfluoreszenztests (Focus IFA test) bestätigt.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsergebnisse aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Insgesamt	18	112	130

Diagnostische Sensitivität: 100.00 % CI₉₅: 82.41–100.00

Diagnostische Spezifität: 95.54 % CI₉₅: 92.42–99.08

14. PRÄZISION

PRÄZISION INNERHALB EINES DURCHLAUFS

	Ergebnisse (Index)			Mittelwert	SD	CV %
LGM 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGM 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGM 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

PRÄZISION ZWISCHEN DURCHLÄUFEN

	Ergebnisse (Index)			Mittelwert	SD	CV %
	Tag 1	Tag 2	Tag 3			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

15. LITERATUR

- G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.
- A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.
- B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of *Legionella pneumophila*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9) : 764-7.
- N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen J. Immunol. Methods 93: 77-81
- M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a *Legionella pneumophila* specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1 : 5-9.
- L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of Legionella Infection Clin. Infect. Dis. 36:64-69

16. SYMBOLERKLÄRUNG

	Herstellungsdatum
	Verfalldatum
	Nicht wieder verwenden
	Achtung, in der Gebrauchsanleitung nachlesen
	Hersteller
	Packung reicht für „n“ Tests
	Temperaturgrenzwerte
	Die Gebrauchsanleitung lesen
	Biologisches Risiko
	Katalognummer
	Medizinisches <i>In-vitro-Diagnostikum</i>
	Chargennummer

Hergestellt von
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italien





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM

1. ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυματική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgM anti *Legionella pneumophila* στον ανθρώπινο ορό με διάταξη μιας χρήσης εφαρμοσμένης στα όργανα Chorus και Chorus TRIO.

CHORUS

Legionella pneumophila IgM

Για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgM anti *Legionella pneumophila*

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η λεγιονέλλωση είναι μια σοβαρή μολυσματική ασθένεια, υψηλής θνησιμότητας, κυρίως για τις νοσοκομειακές παρά για τις κοινοτικές λοιμώξεις. Η ολική θνησιμότητα κυμαίνεται μεταξύ 5-15% και μπορεί να φθάσει το 30-50% στα νοσοκομεία και το 70-80% σε ασθενείς σε κακή κλινική κατάσταση ή των οποίων η θεραπευτική αγωγή έχει καθυστερήσει. Λεγιονέλλωση είναι ο ορισμός όλων των μορφών της νόσου που προκαλείται από αρνητικά κατά Gram βακτήρια του γένους *Legionella*. Τα είδη που συχνότερα εμπλέκονται στις ασθένειες που προσβάλλουν τον άνθρωπο είναι η *Legionella pneumophila*, αν και έχουν απομονωθεί άλλα είδη. Η πιο σοβαρή μορφή λεγιονέλλωσης είναι γνωστή ως η Νόσος των Λεγεωναρίων, η οποία χαρακτηρίζεται από οξεία πνευμονία που εκδηλώνεται μετά από 2-10 ημέρες από την έκθεση στο μολυσματικό παράγοντα. Μια άλλη χαρακτηριστική κλινική εικόνα είναι ο Πυρετός του Pontiac, μια οξεία εμπύρετη εξωπνευμονική πάθηση. Υπάρχουν επίσης μορφές υποκλινικής μόλυνσης με απουσία συμπτωμάτων, και ανιχνεύσιμες μόνο με επαλήθευση ορομετατροπής.

Οι λεγιονέλλες είναι ευρέως διαδεδομένες στη φύση, όπου συνδέονται κυρίως με την παρουσία νερού (λιμνάιες και παραποτάμιες περιοχές, ιαματικές πηγές, υπόγεια ύδατα και υγρότοποι γενικότερα). Από αυτές τις πηγές η *Legionella* μπορεί να αποικίσει τα τεχνητά υδάτινα περιβάλλοντα (αστικά δίκτυα κατανομής πόσιμου νερού, συστήματα νερού για μεμονωμένα κτίρια, εγκαταστάσεις κλιματισμού, πισίνες, συντριβάνια, κλπ.) που δρουν ως ενισχυτές και διανεμητές των μικροοργανισμών. Η μόλυνση μπορεί να επηρεάσει το σύνολο του πληθυσμού. Θεωρούνται ότι βρίσκονται περισσότερο σε κίνδυνο άνδρες προχωρημένης ηλικίας, καπνιστές, καταναλωτές οινοπνεύματος, προσβεβλημένοι από χρόνιες παθήσεις (οξείες βρογχοπνευμονοπάθειες, καρδιαγγειακές και

νεφρικές νόσοι, διαβήτης, κ.λπ.) και με επίκτητη ανοσοποιητική ανεπάρκεια, μετά από θεραπευτικές παρεμβάσεις (μεταμοσχεύσεις οργάνου, θεραπεία με στεροειδή και αντικαρκινικά, κλπ.) ή λοίμωξη με τον ιό HIV.

Από όλες τις αναφερθείσες περιπτώσεις της νόσου των λεγεωναρίων, το 80% μπορεί να αποδοθεί στη *Legionella pneumophila* ορομάδας 1 και η ορομετατροπή ως προς αυτήν την ορομάδα θεωρείται γενικά ως υψηλή πρόβλεψη της ασθένειας.

Η ορολογική διάγνωση της *Legionella pneumophila* που εκτελείται κατά την πρώτη δειγματοληψία, κατά την πρώτη εμφάνιση της νόσου, πρέπει να επιβεβαιωθεί από την αύξηση του τίτλος του αντισώματος σε διαδοχικές δειγματοληψίες μετά την πρώτη, οι οποίες γίνονται την τρίτη εβδομάδα και μετά από 6-8 εβδομάδες, τακτικά, επειδή οι κλινικές εξετάσεις απέδειξαν μια όψιμη σε ορισμένες περιπτώσεις εμφάνιση εκλεκτικών αντισωμάτων σε σημαντικά επίσης επίπεδα, καθώς και τη δυνατότητα παρουσίας των αντισωμάτων anti-L *pneumophila* ελλείψει λεγιονέλλωσης.

Η απάντηση του αντισώματος στη λοίμωξη είναι συνήθως ένα μίγμα από IgA, IgM, IgG. Ο προσδιορισμός της παρουσίας των IgM μπορεί να βοηθήσει με μια διάγνωση της οξείας λοίμωξης αν οι IgM μπορεί να παραμείνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα από τη μόλυνση.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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

Το τεστ ELISA χρησιμοποιεί την αντίδραση μεταξύ των αντισωμάτων που υπάρχουν μέσα στο δείγμα που εξετάστηκε και του αντιγόνου που ακινητοποιήθηκε σε στερεές φάσεις πολυστυρενίου.

Το αντιγόνο που ελήφθη από καλλιέργειες *Legionella pneumophila* οροτύπου 1 αδραναιοποιείται με φορμαλδεΰδη, συνδέεται στη στερεά φάση. Για επώαση του ανθρώπινου ορού σε εξέταση, διαλελυμένου σε ένα διαλύτη που παρεμποδίζει τις IgG, οι εκλεκτικές IgM συνδέονται στο αντιγόνο.

Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από μονοκλωνικά αντισώματα ανθρώπινης αντι IgG συζευγμένα με υπεροξειδάση χρένου.

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης.

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

Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια για την εκτέλεση του τεστ, με τη χρήση της συσκευής Chorus.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά σε εγκεκριμένα από την FDA τεστ, τόσο όσον αφορά την ανίχνευση του HbsAg όσο και για τα αντισώματα αντι-HIV-

1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσματικό. Χρησιμοποιείτε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα παίρνοντας όλες τις προφυλάξεις που προβλέπονται από τους κανονισμούς ασφαλείας του εργαστηρίου.

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

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα και κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.
3. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μόλις τελειώσετε το τεστ.
4. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - α) το συζυγές και τα αντιδραστήρια ελέγχου περιέχουν φαινόλη
 - β) το υπόστρωμα είναι όξινο
 Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
5. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η ζώνη που έχει μολυνθεί θα πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Παρουσία οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η ζώνη. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

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

1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιήσετε

εκείνα τα σετ που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου.

4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με την συσκευή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο της.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
6. Μην αλλοιώνετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης του γραμμικού κώδικα να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση των δειγμάτων.
8. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
10. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
11. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
12. Εισάγετε τον ορό που θα αναλυθεί (50 μl) στην κυψελίδα 1 του σετ με σιφώνιο (βλ. εικόνα).
13. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 81093).

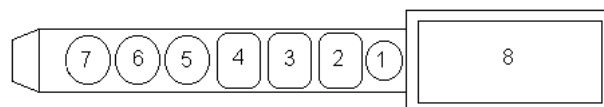
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 81093/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81093).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81093/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Χώρος ετικέτας γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: άδεια

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ

Ευαίσθητοποιημένη με αντιγόνο *Legionella pneumophila* ορότυπου 1

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Μη ευαίσθητοποιημένη:

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει ανθρώπινης αντι-IgG, φαινόλη 0.05%, Bronidox 0.02% και έναν δείκτη που ανιχνεύει την παρουσία ορού

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 mL

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

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ 1 x 0.425 mL

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

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε συνιστόν μέρος και πάνω στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

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

ΣΥΣΚΕΥΕΣ	8 ΕΒΔΟΜΑΔΕΣ ΣΕ 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 ΕΒΔΟΜΑΔΕΣ ΣΕ 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ	8 ΕΒΔΟΜΑΔΕΣ ΣΕ 2/8°C

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το δείγμα είναι ένας ορός που προέρχεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με φλεβική λήψη και έχει περάσει από όλες τις διαδικασίες που προβλέπονται από τους κανονισμούς των εργαστηρίων. Ο νωπός ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C, ενώ για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους καταψύξετε στους -20°C. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές. Μετά από την απόψυξη και πριν να το ρίξετε στην κυψελίδα, ανακινήστε το καλά. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του δείγματος και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Δείγματα με ισχυρή αιμόλυση, με ίκτερο, ή μολυσμένα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η συσκευή Chorus παρέχει το αποτέλεσμα σε INDEX (εξαρτώμενη από την παρτίδα - αναλογία ανάμεσα στην τιμή

οπτικής πυκνότητας (OD) του δείγματος και εκείνης της αποκοπής).

Το τεστ πάνω στον ορό μπορεί να ερμηνευτεί ως κατωτέρω:

ΘΕΤΙΚΟ όταν ο δείκτης είναι > 1.1

ΑΡΝΗΤΙΚΟ όταν ο δείκτης είναι < 0.9

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ Δείκτης βρίσκεται ανάμεσα στα 0.9 και 1.1

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές, επαναλάβετε την αιμοληψία μετά από 1-2 εβδομάδες.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Τα αποτελέσματα της δοσολογίας πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή και να συναξιολογούνται μαζί με άλλα δεδομένα που προέρχονται από την κλινική αξιολόγηση και από άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

Οι οροί των ασθενών που βρίσκονται σε πρώιμη ή σε όψιμη εμφάνιση της νόσου, θα μπορούσαν να δώσουν ένα επανειλημμένα αρνητικό αποτέλεσμα κοντά στην τιμή του κατωφλίου της αποκοπής. Σε τέτοιου είδους περιπτώσεις συνιστάται η εξακρίβωση του αποτελέσματος, αναλύοντας ένα νέο δείγμα που ελήφθη σε ένα διάστημα 7-10 ημερών από το πρώτο.

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Ελέγχθηκαν 47 δείγματα ορού που περιέχουν πιθανές παρεμβαλλόμενες ουσίες:

Ρευματοειδής παράγοντας (n=9)

Χολερουθρίνη υψηλού τίτλου (n = 3)

Τριγλυκερίδια (n=5)

PCR (n= 3)

Αιμολύματα (n= 23)

Εξετάστηκαν 27 οροί θετικού ως προς άλλες αναπνευστικές παθήσεις: και μη:

Mycoplasma pneumoniae (n= 11)

Chlamidia pneumoniae (n= 7)

Helicobacter pylori (n= 1)

Clostridium Tetani (n=2)

TBC (n= 2)

Yersinia enterocolitica (n= 2)

Epstein-Barr (n= 2)

Η παρουσία στον ορό στην εξέταση των παρεμβαλλόμενων ουσιών που αναφέρονται ανωτέρω δεν τροποποιεί το αποτέλεσμα του τεστ.

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Σε μια εκτέλεση πειραμάτων, αναλύθηκαν 130 δείγματα με kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου (ELISA Vircell); τα μη συμφωνούντα δείγματα επιβεβαιώνονται χρησιμοποιώντας ένα τεστ ανοσοφθορισμού του εμπορίου (IFA Diamedix).

Τα δεδομένα του πειράματος συνοψίζονται κατωτέρω:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Σύνολο	18	112	130

Διαγνωστική Ευαισθησία: 100.00 % CI_{95%}: 82.41 – 100.00

Διαγνωστική Εκλεκτικότητα: 95.54 % CI_{95%}: 92.42 – 99.08

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΣΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΤΗΣ ΘΕΣΗΣ

	Αποτελέσματα (Δείκτης)			Μέσα	DS	CV%
LGM 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGM 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGM 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΘΕΣΕΙΣ

	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ (ΔΕΙΚΤΗΣ)			ΜΕΣΑ	DS	CV%
	ΗΜΕΡΑ 1:	ΗΜΕΡΑ 2:	ΗΜΕΡΑ 3:			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.
- A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of Legionella pneumophila Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.
- B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of Legionella pneumophila. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9) : 764-7.
- N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole Legionella pneumophila cell as antigen J. Immunol. Methods 93: 77-81
- M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a Legionella pneumophila specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1 : 5-9.
- L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of Legionella Infection Clin. Infect. Dis. 36:64-69

16. ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

	Ημερομηνία Παραγωγής
	Ημερομηνία λήξης
	Μην κάνετε επαναληπτική χρήση
	Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα
	Κατασκευαστής
	Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις
	Περιορισμοί θερμοκρασίας
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Βιολογικοί κίνδυνοι
	Αριθμός καταλόγου
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Αριθμός παρτίδας

Παρασκευάζεται από:
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Ιταλία





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti *Legionella pneumophila* en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus Trio.

CHORUS

Legionella pneumophila IgM

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti *Legionella pneumophila*

Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

La legionelosis es una enfermedad infecciosa grave con alta tasa de mortalidad. La tasa total de mortalidad es del 5-15 %, pudiendo alcanzar el 30 – 50 % en población hospitalaria y el 70 – 80 % en pacientes en estado clínico grave o que hayan recibido tratamiento tardío. Se define como legionelosis la enfermedad causada por bacterias gram-negativas del género *Legionella*. La especie más frecuentemente implicada en las patologías humanas es *Legionella pneumophila*, aunque se han aislado otras especies también. La forma más severa de legionelosis es la conocida como “Enfermedad del Legionario”, que se caracteriza por neumonía con fiebre alta que aparece 2 – 10 días después de la exposición al agente infeccioso. Otra forma clínica característica es la “Fiebre de Pontiac”, que se manifiesta como un síndrome febril agudo y autolimitado, extra-pulmonar. También existen formas de infección subclínica sin sintomatología, que sólo se pueden detectar mediante la observación de sero-conversión.

El género *Legionella* está ampliamente extendido en la naturaleza, encontrándose generalmente asociadas en presencia de agua (lagos, ríos, aguas termales, aguas subterráneas y ambientes húmedos en general). A partir de estas fuentes, el género *Legionella* puede colonizar medios acuáticos artificiales (redes de agua potable urbana, sistemas de agua para los edificios, aire acondicionado, piscinas, fuentes, etc), que actúan como amplificadores y difusores del microorganismo. La infección puede afectar a cualquier población. Se encuentran en mayor riesgo los sujetos de sexo masculino de edad avanzada fumadores, consumidores de alcohol, los afectados por enfermedades crónicas (broncopneumopatías obstructivas crónicas, enfermedades cardíacas y renales, diabetes, etc), y pacientes con

inmunodeficiencia adquirida como consecuencia de intervenciones terapéuticas (transplante de órganos, tratamiento con esteroides y antitumorales, etc) o con infección por VIH.

El 80 % de los casos de legionelosis informados pueden ser atribuidos a serogrupos de *Legionella pneumophila*. Hasta ahora se han identificado 14 serogrupos, de los cuales, históricamente, se han utilizado los del tipo 1– 6 en las pruebas serológicas de cribado. El diagnóstico serológico de *Legionella pneumophila* de la primera muestra recogida debe ser confirmado por un aumento en el título de anticuerpos en muestras sucesivas, recogidas y ensayadas 3 semanas después y retestadas 6 – 8 semanas después, ya que investigaciones clínicas han mostrado un inicio tardío en la producción de anticuerpos específicos en algunos casos, existiendo también la posibilidad de presencia de anticuerpos anti-*Legionella pneumophila* en ausencia de legionelosis.

Los anticuerpos generados en respuesta a la infección son, generalmente, una mezcla de IgA, IgM e IgG. La detección de presencia de IgM puede apoyar el diagnóstico de infección aguda, aunque los anticuerpos IgM pueden permanecer en circulación durante un largo periodo de tiempo tras la infección.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El test se basa en la técnica ELISA. (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

La prueba ELISA utiliza la reacción entre los anticuerpos presentes en la muestra analizada y el antígeno fijado en fase sólida de poliestireno.

El antígeno, es obtenido por cultivo de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 e inactivado con formaldehído, y fijado a la fase sólida.

Tras la incubación con una muestra de suero humano diluido con un diluyente bloqueante la IgG, la IgM específicas existente se unen al determinado antígeno. Después de varios procesos de lavado las proteínas que no han reaccionado son eliminadas.

Se realiza una nueva incubación con el conjugado, compuesto por anticuerpos monoclonales anti-IgM humano conjugados con peroxidasa de rábano. El conjugado que no se ha unido es eliminado por un proceso de lavado y se añade el sustrato peroxidasa.

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

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con el instrumento Chorus.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y que dieron resultados negativos en métodos aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una completa garantía sobre la ausencia de agentes

infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los reactivos y las muestras deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Derrames de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras utilizadas deben ser tratadas como residuos infecciosos y luego eliminadas en conformidad con las disposiciones de las leyes vigentes.

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear la muestra por vía oral.
2. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavar las manos a fondo después de terminar la prueba.
4. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado y los controles contienen fenol
 - b) El sustrato es ácido

Si cualquier reactivo entra en contacto con la piel o con los ojos, lavar con agua abundante.

5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1,0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El vertido de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1,0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

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

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Comprobar que la muestra esté bien distribuida en el fondo cuando se añada al pocillo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos en los que falte algún reactivo.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario Chorus.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.

8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga cuerpos extraños.
12. Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
13. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 81093).

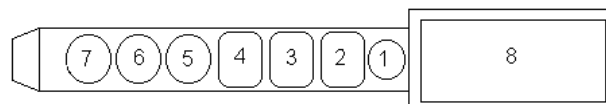
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 81093/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81093).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81093/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiquetas con códigos de barra

Posición 7: Libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con antígeno de L. pneumophila serogrupo 1

Posición 5: POCILLO

No sensibilizado

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

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

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra de suero extraído por punción venosa de forma habitual y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por las buenas prácticas de laboratorio. El suero fresco se puede conservar entre 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C. La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos. No utilizar muestras muy lipémicas, ictericas, hemolizadas o contaminadas.

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El equipo Chorus indica el resultado en Index (relación entre el valor en OD de la muestra y lo del cut-off guardado en el equipo).

La prueba sobre el suero analizado puede interpretarse como sigue:

Positivo: si el Index es > 1.1.
Negativo: si el Index es < 0.9
Dudoso/Equívoco: para todos los valores entre 0.9 y 1.1.

En caso de resultado dudoso/equívoco, se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra de sangre después de 1-2 semanas.

11. LIMITACIONES

El resultado del test debe ser interpretado con cuidado y evaluado junto con datos procedentes de otros procedimientos de diagnóstico.

Muestras de sueros de pacientes que se encuentran en una fase precoz o tardía de la enfermedad, podrían dar un resultado repetidamente negativo si los valores son cercanos al valor umbral del Cut-Off. En estos casos se recomienda comprobar el resultado tomando una nueva muestra de suero después de 7-10 días de la primera recogida.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 47 muestras de suero conteniendo potenciales interferentes:

Factor reumatoide (n=6)
Bilirrubina alta titulación (n=3)
Triglicéridos (n=12)
PCR (n=3)
Hemolizados (n=23)

Se analizaron 27 sueros positivos frente a otras patologías respiratorias como:

Mycoplasma pneumoniae (n= 11)
Clamidia pneumoniae (n= 7)
Helicobacter pylori (n= 1)
Clostridium Tetani (n=2)
TBC (n= 2)
Yersinia enterocolitica (n= 2)
Epstein-Barr (n= 2)

La presencia en el suero analizado de sustancias interferentes arriba indicadas no afecta el resultado del test.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

En una prueba, se analizaron 130 muestras con el kit Diesse y con otro método comercial (ELISA Viracell); las muestras discordantes se confirmaron utilizando una prueba de inmunofluorescencia comercial (Focus IFA test).

Aquí se resumen los datos de la evaluación:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Total	18	112	130

Sensibilidad de Diagnóstico: 100.00 % CI_{95%}: 82.41 – 100.00

Especificidad de Diagnóstico: 95.54 % CI_{95%}: 92.42 – 99.08

14. REPRODUCIBILIDAD

REPRODUCIBILIDAD INTRA-ENSAYO

	Resultados (Index)			Media	DS	CV%
LGM 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGM 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGM 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

REPRODUCIBILIDAD ENTRE ENSAYOS

	Resultados (Index)			Media	DS	CV%
	Día 1	Día 2	Día 3			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

15. BIBLIOGRAFÍA

1. G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.
2. A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.
3. B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of *Legionella pneumophila*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9) : 764-7.
4. N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen J.Immunol. Methods 93: 77-81
5. M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a *Legionella pneumophila* specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1 : 5-9.
6. L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of Legionella Infection Clin.Infect. Dis. 36:64-69

16. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS

	Fecha de Producción
	Fecha de caducidad
	No reutilizar
	Cuidado, revisar las instrucciones de uso
	Fabricante
	Reactivo suficiente para <n> pruebas
	Límites de temperatura
	Consultar las instrucciones de uso
	Riesgo biológico
	Referencia
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Número de lote

Fabricado por
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA 1 IgG

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps IgM anti-*Legionella pneumophila* dans le sérum humain avec dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

CHORUS

**Legionella pneumophila 1 IgG
Pour la détermination qualitative des anticorps
IgM anti-*Legionella pneumophila***

Pour usage diagnostique *in vitro* uniquement

2. INTRODUCTION

La légionellose est une maladie infectieuse grave, à forte mortalité, plus fréquente par infections nosocomiales que par celles communautaires. La mortalité totale est de 5-15% et peut atteindre 30-50% chez les personnes hospitalisées et 70-80% chez les patients en mauvaises conditions cliniques ou traités tardivement. Légionellose est la définition de toutes les formes mortelles causées par les bactéries gram-négatives du genre *Legionella*. L'espèce la plus souvent impliquée dans les pathologies humaines est la *Legionella pneumophila*, même si d'autres espèces ont été isolées. La forme la plus sévère de légionellose est celle appelée Maladie du Légionnaire, caractérisée par une pneumonie aiguë qui se manifeste 2 à 10 jours après l'exposition à l'agent infectieux. Une autre caractéristique du cadre clinique est la Fièvre de Pontiac, une affection fébrile aiguë extra pulmonaire. Il existe également d'autres formes d'infections subcliniques, avec absence de symptômes, et pouvant être mises en évidence uniquement par séroconversion avérée.

Les *Legionella* sont largement répandues dans la nature, où elles sont associées principalement à la présence d'eau (surfaces lacustres et fluviales, sources thermales, nappes phréatiques et environnements humides en général). A partir de ces sources, la *Legionella* peut coloniser les environnements hydriques artificiels (réseaux urbains de distribution de l'eau potable, installations hydriques de chaque bâtiment, installation de climatisation, piscines, fontaines, etc.) qui agissent comme des amplificateurs et disséminateurs du microorganisme. L'infection peut toucher toute la population. Sont considérés plus à risque les sujets de sexe masculin, d'âge avancé, les fumeurs, les consommateurs d'alcool, les porteurs de maladie chronique (broncho-pneumopathies obstructives, maladies cardiovasculaires et rénales, diabète,

etc.) et avec immunodéficience acquise suite à des interventions thérapeutiques (transplantation d'organe, thérapie avec stéroïdes et anti-tumoraux, etc.) ou infection par HIV.

De tous les cas de légionellose reportés, 80% sont attribuables à la *Legionella pneumophila* du sérotype 1, et la séroconversion de ce sérotype est généralement considérée hautement prédictive pour ce groupe.

Le diagnostic sérologique de *Legionella pneumophila* effectué au premier prélèvement, au début de la maladie, doit être nécessairement confirmé par une augmentation du titre d'anticorps dans les prélèvements suivants, effectués à la troisième semaine et après 6-8 semaines, car les enquêtes cliniques ont démontré une apparition parfois tardive des anticorps spécifiques même à des niveaux significatifs, et la possibilité de la présence d'anticorps anti-L. pneumophila en absence de Légionellose.

La réponse anticorpale à l'infection est généralement un mélange de IgA, IgM, IgG. La détermination de la présence d'IgM peut aider au diagnostic d'une infection aiguë même si les IgM peuvent persister pendant une longue période de temps à l'infection.

3. PRINCIPE DU TEST

Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Le test ELISA exploite la réaction entre l'anticorps se trouvant dans l'échantillon à l'examen et l'antigène immobilisé sur une phase solide de polystyrène.

L'antigène, obtenu par culture de *Legionella pneumophila* et inactivé par du formaldéhyde, se lie à la phase solide. Par incubation avec du sérum humain dilué dans un diluant bloquant les IgG, les IgM spécifiques se lient à l'antigène.

Après lavages pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgG humains conjugués avec du peroxyde de raifort.

Une fois le conjugué non-lié éliminé par lavage, on ajoute le substrat pour la peroxydase.

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

Les dispositifs à usage unique disposent de tous les réactifs pour effectuer le test quand ils sont appliqués à l'appareil Chorus.

Le résultat est exprimé par rapport à une valeur limite.

4. PRÉCAUTIONS

POUR UTILISATION DIAGNOSTIC *IN VITRO* UNIQUEMENT.

Ce kit contient du matériel d'origine humaine qui a été testé et trouvé négatif à des tests approuvés par la FDA tant pour la recherche des HBsAg que pour celle des anticorps anti-HIV-1, anti-HIV-2 et anti-HCV. Comme aucun test diagnostique ne peut offrir une garantie totale de l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré potentiellement infecté. Tous les réactifs et les échantillons doivent être manipulés

conformément aux normes de sécurité normalement adoptées dans un laboratoire.

Elimination des déchets: les échantillons de sérum, les étalons et les bandelettes usagées doivent être traités comme des déchets infectés, et donc éliminés conformément aux dispositions des lois en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

7. Ne pas pipeter à la bouche.
8. Utiliser des gants jetables et une protection pour les yeux lors de la manipulation des échantillons et durant le test.
9. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
10. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations de substances dangereuses ou irritantes :
 - c) Le conjugué et les contrôles contiennent du phénol
 - d) Le substrat est acide
 Si un réactif entre en contact avec la peau ou avec les yeux, laver abondamment à l'eau.
11. Les acides neutralisés et les autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant de l'hypochlorite de soude dans un volume suffisant pour obtenir une concentration finale d'au moins 1%. Une exposition à l'hypochlorite de soude 1% pendant 30 minutes devrait être suffisante pour garantir une désinfection efficace.
12. D'éventuels déversements de matériel potentiellement infecté doivent être enlevés immédiatement avec du papier absorbant et la zone polluée devra être décontaminée, par exemple avec de l'hypochlorite de soude 1%, avant de continuer le travail. Si un acide est présent, l'hypochlorite de soude ne devra pas être utilisé avant que la zone ne soit essuyée. Tout le matériel utilisé pour décontaminer d'éventuels déversements accidentels, y compris les gants, doit être jeté comme des déchets potentiellement infectés. Ne pas mettre du matériel contenant de l'hypochlorite de soude dans l'étuve.

Avertissements analytiques

Avant l'utilisation, porter les dispositifs à utiliser à température ambiante (18-30°C) et les utiliser dans les 60 minutes.

14. Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.

15. En ajoutant l'échantillon au puit, vérifier qu'il soit parfaitement distribué sur le fond.
16. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier, ne pas utiliser de dispositifs qui présentent un manque en un réactif quelconque au contrôle visuel.
17. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'appareil Chorus, en suivant rigoureusement les Instructions pour l'utilisation et le Manuel de l'appareil.
18. Contrôler que l'appareil Chorus soit réglé correctement (voir Manuel d'Utilisation Chorus).
19. Ne pas altérer le code à barres placé sur la poignée de l'appareil afin d'en permettre la lecture correcte par l'appareil.
20. Éviter l'utilisation de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.

21. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'appareil.
22. Ne pas exposer les dispositifs à un fort éclairage ou à des vapeurs d'hypochlorite durant la conservation et l'utilisation.
23. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés ou d'échantillons qui présentent une pollution microbienne peut être une source d'erreurs.
24. Avant d'insérer le dispositif dans l'appareil Chorus, s'assurer que le puit de réaction ne contient pas de corps étrangers.
25. Pipeter le sérum à l'examen (50 µl) dans le puit 1 du dispositif (voir figure).
26. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 81093).

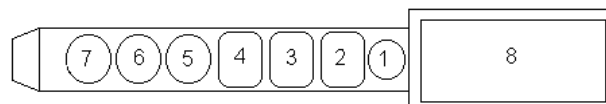
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 81093/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81093).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81093/12).

Description :



Position 8 : Espace disponible pour étiquette avec code à barres

Position 7 : vide

Position 6 : PUIT DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec l'antigène *Legionella pneumophila* sérotype 1

Position 5 : PUIT

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 ECHANTILLONS

Contenu : Solution protéique, contenant des anticorps anti-IgG humaines, du phénol 0.05%, Bronidox 0.02% et un indicateur pour révéler la présence de sérum

Position 2 : CONJUGUE

Contenu : anticorps monoclonaux marqués à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol 0.05% et Bronidox 0.02%

Position 1 : PUIT VIDE

Où l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.175 mL

Contenu: Sérum humain dilué, à concentration connue en anticorps avec Proclin et Gentamycine. Liquide, prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.425 mL

Contenu: Sérum humain dilué, à concentration connue en anticorps avec Proclin et Gentamycine. Liquide, prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI :

- WASHING BUFFER [REF] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Eau distillée ou déionisée
- Verrerie normale de laboratoire : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever soigneusement des volumes de 50-200 µl.
- Gants à usage unique
- Solution d'hypochlorite de soude 5%
- Récipients pour la récolte de matériel potentiellement infecté

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8°C. En cas de conservation à mauvaise température, il faut répéter l'étalonnage et contrôler que le résultat est correct avec le sérum de contrôle (voir chapitre 9: Validation du test).

La date d'échéance 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
ETALON	8 semaines à 2/8°C
CONTROLE POSITIF	8 semaines à 2/8°C

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION :

L'échantillon est représenté par du sérum obtenu à partir de sang prélevé par prélèvement veineux normal et manipulé tel que requis dans les procédures standards de laboratoire. Le sérum frais peut être maintenu 4 jours à 2/8°C; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20°C. L'échantillon peut subir jusqu'à 3 décongélations au maximum. Après décongélation, agiter avec soin avant le dosage. La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut entraîner des résultats erronés.

Les échantillons fortement lipémiques, ictériques ou pollués ne peuvent être utilisés.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (côté contenant la fermeture à pression), prélever le nombre de dispositifs nécessaires pour effectuer les examens et conserver les autres en refermant le sachet après avoir fait sortir l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif conformément aux indications reportées dans le chapitre 4 Avertissements Analytiques points 1 et 8.
3. Distribuer dans le puit n°1 de chaque dispositif 50 µl de sérum non dilué à analyser. A chaque changement de lot, utiliser le dispositif pour l'étalonnage.
4. Introduire les dispositifs dans l'appareil Chorus. Effectuer l'étalonnage (si nécessaire) et le test comme reporté dans le Manuel d'Instructions de l'appareil.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier si le résultat obtenu est correct, en le traitant comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'appareil. Si l'appareil signale que le sérum de contrôle a une valeur hors des limites d'acceptabilité, il faut à nouveau étalonner. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du sérum de contrôle n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'appareil Chorus reporte un résultat comme INDEX (rapport entre la valeur de DO de l'échantillon et celle de la limite en mémoire dans l'appareil).

Le test sur sérum à l'examen peut aussi être interprété comme suit :

Positif : quand l'indice > 1.1

Négatif : quand l'indice < 0.9

Douteux/Équivoque : indice compris entre 0.9 et 1.1

En cas de résultat douteux/équivoque, répéter le test. Si le résultat reste douteux/équivoque, répéter le prélèvement après 1-2 semaines.

11. LIMITATIONS DU TEST

Les résultats du dosage doivent être interprétés avec prudence et confirmés par d'autres données provenant d'évaluation clinique et d'autres enquêtes diagnostiques.

Des sérums de patients qui se trouvent dans une phase précoce ou tardive de la maladie, pourraient donner des résultats négatifs répétés proches de la valeur limite seuil. Dans ces cas, il est recommandé de vérifier le résultat, en dosant un nouvel échantillon prélevé à un intervalle de 7-10 jours du premier.

12. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

On a testé 47 échantillons de sérum contenant des interférents potentiels:

Facteur Rhumatoïde (n= 6)

Bilirubine titre élevé (n=3)

Triglycérides (n=12)

PCR (n=3)

Hémolysés (n=23)

On a testé 27 sérums positifs envers d'autres pathologies respiratoires et non:

Mycoplasma pneumoniae (n= 11)

Chlamydia pneumoniae (n=7)

Helicobacter pylori (n= 1)

Clostridium tetani (n=2)

TBC (n= 2)

Yersinia enterocolitica (n=2)

Epstein-Barr (n= 2)

La présence dans le sérum en examen des substances interférentes reportées ci-dessus n'altère pas le résultat du test.

13. SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DIAGNOSTIQUE

Dans une expérimentation de 130 échantillons, on a analysé le kit Diesse et un autre kit du commerce (ELISA Vircell); les échantillons discordants ont été confirmés en utilisant un test d'immunofluorescence du commerce (test IFA Focus).

Ci-après sont schématisés les données de l'expérimentation:

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Total	18	112	130

Sensibilité Diagnostique: 100.00 % CI_{95%}: 82.41 – 100.00

Spécificité Diagnostique: 95.54 % CI_{95%}: 92.42 – 99.08

14. PRÉCISION

PRECISION INTRA-TEST

	Résultats (Index)			Moyenne	DS	CV%
LGG 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGG 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGG 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

	Jour 1	Jour 2	Jour 3			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

15. BIBLIOGRAPHIE

- G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.
- A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.
- B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of *Legionella pneumophila*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9) : 764-7.
- N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen J. Immunol. Methods 93: 77-81
- M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a *Legionella pneumophila* specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1 : 5-9.
- L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of *Legionella* Infection Clin. Infect. Dis. 36:64-69

16. EXPLICATION DES SYMBOLES

PRECISION INTER-TESTS

	Résultats (Index)	Moyenne	DS	CV%
--	-------------------	---------	----	-----

	Date de fabrication
	Echéance
	Usage unique
	Attention, consulter le livret d'instructions
	Fabricant
	Emballage suffisant pour <n> tests
	Limites de température
	Consulter les instructions pour l'utilisation
	Risque biologique
	Numéro de catalogue
	Dispositif médical pour diagnostic <i>in vitro</i>
	Numéro de lot

Fabriqué par
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (Sienne)
 Italie





INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM

1. UTILIZAÇÃO

Método de imunoabsorção enzimática para a determinação qualitativa de anticorpos IgM anti-*Legionella pneumophila* no soro humano com dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

CHORUS

**Legionella pneumophila IgM
Para a determinação qualitativa de anticorpos
IgM anti-*Legionella pneumophila***

Só para uso em diagnóstico *in vitro*

2. INTRODUÇÃO

A legionelose é uma doença infecciosa grave, de elevada mortalidade, superior nas infecções nosocomiais do que nas comunitárias. A mortalidade total é de 5 a 15% e pode alcançar 30 a 50% nos hospitais e 70 a 80% nos doentes em condições clínicas precárias ou tratadas tardiamente. Legionelose é a definição de todas as formas patológicas provocadas pelas bactérias gram-negativas do género *Legionella*. A espécie mais frequente presente nas patologias humanas é a *Legionella pneumophila*, apesar de terem sido isoladas outras espécies. A forma mais grave de legionelose é a chamada Doença dos Legionários, caracterizada por uma pneumonia aguda que se manifesta 2 a 10 dias após a exposição ao agente infeccioso. Outro quadro clínico característico é a Febre de Pontiac, um estado febril agudo extra-pulmonar. Também existem formas de infecção subclínicas, sem sintomas, e apenas registáveis por verificada soroconversão.

A *Legionella* é muito comum na natureza, onde se encontra principalmente associada à presença de água (superfícies lacustres e fluviais, fontes termais, lençóis freáticos e ambientes húmidos em geral). A partir destas fontes, a *Legionella* pode colonizar os ambientes hídricos artificiais (aquedutos de distribuição de água potável, equipamentos hídricos dos edifícios, equipamentos de climatização, piscinas, fontes, etc.) que actuam como amplificadores e propagadores do microrganismo. A infecção pode afectar toda a população. São considerados de maior risco os indivíduos do sexo masculino, mais idosos, fumadores, consumidores de álcool, que sofram de doenças crónicas (broncopneumopatias obstrutivas, doenças cardiovasculares e renais, diabetes, etc.) e com imunodeficiência adquirida após intervenções terapêuticas (transplantes de órgãos, terapia com esteróides e anti-tumorais, etc.) ou infecção por HIV.

De todos os casos de legionelose indicados, 80% podem ser atribuídos à *Legionella pneumophila* grupo serológico 1 e, geralmente, a soroconversão para este grupo serológico é considerada como altamente indicativa da doença.

O diagnóstico serológico da *Legionella pneumophila*, efectuado na primeira colheita no início da doença, deve ser necessariamente confirmado por um incremento da titulação de anticorpos nas colheitas seguintes, efectuadas na terceira semana e após 6 a 8 semanas, pois alguns estudos clínicos demonstraram um aparecimento por vezes tardio de anticorpos específicos, inclusivamente com níveis significativos, e a possibilidade de presença de anticorpos anti-*L. pneumophila* na ausência de legionelose.

Geralmente, a resposta de anticorpos à infecção é uma mistura de IgA, IgM e IgG. A determinação da presença de IgM pode ajudar o diagnóstico da infecção aguda, mesmo se as IgM podem persistir por um período de tempo prolongado após a infecção.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) (Ensaio de imunoabsorção enzimática).

O teste ELISA usufrui da reacção entre anticorpos presentes na amostra em exame e o antigénio imobilizado em fases sólidas de poliestireno.

O antigénio, obtido da cultura de *Legionella pneumophila* do tipo serológico 1, e inactivado com formaldeído, é ligado à fase sólida. Por incubação com soro humano diluído num diluente bloqueador das IgG, as IgM específicas ligam-se ao antigénio. Após algumas lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efectua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti-IgM humanas conjugados com peroxidase de rábano.

Elimina-se o conjugado que não se ligou e junta-se o substrato para a peroxidase.

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

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para executar o teste, quando aplicados no instrumento Chorus.

4. PRECAUÇÕES

SÓ PARA USO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e apresentaram resultados negativos com testes aprovados pela FDA, contra HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti-HIV-2 e anti-HCV. Como nenhum teste diagnóstico pode dar uma garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deverá ser considerado potencialmente infectado. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados de acordo com as normas de segurança normalmente adoptadas em laboratório.

Eliminação dos resíduos: as amostras de soro, os calibradores e as tiras usadas e devem ser tratados como

resíduos infectados e portanto devem ser eliminados de acordo com as disposições de lei em vigor no local.

Advertências para a segurança pessoal

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma protecção dos olhos quando manusear as amostras e durante o teste.
3. Lavar muito bem as mãos no final do teste.
4. Os reagentes seguintes contêm concentrações baixas de substâncias nocivas ou irritantes:
 - a) O conjugado e os controlos contêm fenol
 - b) O substrato é ácido

Se um reagente entrar em contacto com a pele ou com os olhos, lavar abundantemente com água.
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfectados adicionando hipoclorito de sódio em volume suficiente para obter uma concentração final de pelo menos 1%. Uma exposição ao hipoclorito de sódio a 1%, por 30 minutos, deverá ser suficiente para garantir uma desinfeção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infectados devem ser removidos imediatamente com papel absorvente e a zona deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não deverá ser usado antes que a zona tenha sido devidamente enxuta. Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, as quais devem ser eliminadas como resíduos potencialmente infectados. Não introduzir materiais com hipoclorito de sódio em autoclave.

Advertências analíticas

Quando forem utilizados, os dispositivos devem estar à temperatura ambiente (18-30°C) e utilizados em 60 minutos.

1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao juntar a amostra no poço, verificar se fica bem distribuída no fundo.
3. Verificar a efectiva presença dos reagentes no dispositivo e o estado desse mesmo dispositivo, não utilizar dispositivos que após uma verificação visual mostram a falta de qualquer reagente.
4. Os dispositivos devem ser utilizados com o instrumento Chorus, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.
5. Verificar se o instrumento Chorus está bem configurado (consultar o Manual de Instruções do Chorus).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo de modo a permitir uma leitura correcta pelo instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores com no-frost para a conservação das amostras.
8. Os códigos de barras podem ser inseridos manualmente no instrumento.
9. Não expor os dispositivos a uma forte iluminação nem a vapores de hipoclorito durante a sua conservação e uso.

10. Poderá ser uma fonte de erros a utilização de amostras fortemente hemolisadas, ou amostras que apresentem contaminação microbiana.
11. Antes de inserir o dispositivo no instrumento Chorus, verificar se o poço de reacção não contém corpos estranhos.
12. Pipetar o soro em exame (50 µl) no poço 1 do dispositivo (ver a figura).
13. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 81093).

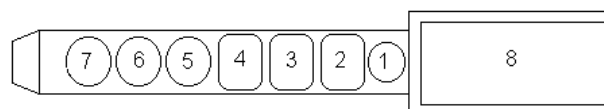
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 81093/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81093).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81093/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para o rótulo com o código de barras

Posição 7: vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com antígeno *Legionella pneumophila* do tipo serológico 1

Posição 5: POÇO

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

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve distribuir o soro não diluído

Uso: estabilizar um pacote à temperatura ambiente, abrir o pacote, recolher os dispositivos necessários; colocar os outros no pacote com o gel de sílica, deixar sair o ar e fechar premindo o fecho. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

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

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

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

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
- Água destilada ou desionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas capazes de recolher com precisão volumes de 50 a 200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. MODALIDADES DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8°C. Em caso de temperatura de conservação errada, a calibração deve ser repetida e os resultados confirmados com o soro de controlo (ver o capítulo 9: Validação do teste).

A data de validade está impressa em cada componente e no rótulo externo da embalagem.

Os reagentes têm uma estabilidade limitada 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 CONSERVAÇÃO

A amostra é representada por um soro obtido de sangue recolhido com uma normal punção venosa e manuseado como exigido pelas normas laboratoriais. O soro fresco pode ser mantido durante 4 dias a 2/8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20°C. A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Depois do descongelamento, agitar muito bem antes da dosagem. A qualidade da amostra poderá ser altamente influenciada pela contaminação microbiana, a qual poderá levar a resultados errados.

Não podem ser utilizadas amostras fortemente lipémicas, ictericas ou contaminadas.

8. MODO DE PROCEDER

1. Abrir o pacote (pelo lado com o fecho por pressão), recolher a quantidade necessária de dispositivos para

efectuar os exames e conservar os outros fechando bem o pacote depois de esvaziado o ar.

2. Controlar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações do capítulo 4 Advertências Analíticas, pontos 1 e 8.
3. Distribuir no poço n.º 1, de cada dispositivo, 50 µl de soro não diluído a analisar, em cada mudança de lote utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus. Executar a calibração (se necessário) e o teste como indicado no Manual de Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo para verificar a exactidão do resultado obtido, processando-o como indicado no manual de utilização do instrumento. Se o instrumento assinalar que o soro de controlo tem um valor fora dos limites aceitáveis é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus dá um resultado em índice (razão entre o valor em OD da amostra e o de cut-off memorizado pelo instrumento).

O teste no soro em exame pode ser interpretado do modo seguinte:

Positivo: quando o índice é > 1.1
Negativo: quando o índice é < 0.9
Incerto/Equivocado: índice entre 0.9 e 1.1

Repetir o teste em caso de resultado incerto/equivocado. Se o resultado continuar incerto/equivocado, repetir a colheita depois de 1 a 2 semanas.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Os resultados da dosagem devem ser interpretados com cautela e validados em conjunto com outros provenientes do diagnóstico clínico e de outros exames de diagnóstico.

Os soros de doentes que se encontram numa fase precoce, ou tardia, da doença, poderão dar um resultado repetidamente negativo, próximo do valor limite de Cut-Off. Nesses casos aconselha-se verificar o resultado, doseando outra amostra recolhida com um intervalo de 7 a 10 dias do primeiro.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 47 amostras de soros com potenciais interferentes:

Factor Reumatóide (n= 6)
Bilirrubina de titulação elevada (n= 3)
Triglicéridos (n= 12)

PCR (n= 3)
 Hemolisados (n= 23)
 Foram testados 27 soros positivos a outras patologias respiratórias ou não:

Mycoplasma pneumoniae (n= 11)
Clamidia pneumoniae (n= 7)
Helicobacter pylori (n= 1)
Clostridium Tetani (n=2)
 TBC (n= 2)
Yersinia enterocolitica (n= 2)
 Epstein-Barr (n= 2)

A presença no soro em exame de substâncias interferentes acima mencionadas não altera o resultado do teste.

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

Numa experimentação de 130 amostras, foram analisadas com um kit Diesse e com outro kit obtido no mercado (ELISA Vircell); as amostras divergentes foram confirmadas usando um teste em imunofluorescência obtido no mercado (Focus IFA test).

De seguida estão resumidos os resultados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Total	18	112	130

Sensibilidade do Diagnóstico: 100,00 % CI_{95%}: 82,41 – 100,00

Especificidade do Diagnóstico: 95,54 % CI_{95%}: 92,42 – 99,08

14. PRECISÃO

PRECISÃO DURANTE O TESTE

	Resultados (Index)			Média	DS	CV%
LGM 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGM 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGM 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

PRECISÃO ENTRE OS TESTES

	Resultados (Index)			Média	DS	CV%
	1º dia	2º dia	3º dia			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.

2.A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.

3.B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of *Legionella pneumophila*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9): 764-7.

4.N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen J.Immunol. Methods 93: 77-81

5.M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a *Legionella pneumophila* specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1 : 5-9.

6.L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of *Legionella* Infection Clin.Infect. Dis. 36:64-69

16. EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS

	Data de fabrico
	Data de validade
	Não reutilizar
	Atenção, consultar o folheto de instruções
	Fabricante
	Embalagem suficiente para <n> testes
	Limites de temperatura
	Consultar as instruções de utilização
	Risco biológico
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número do lote

Fabricado por
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italia





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM

1. DESTINATIA UTILIZARI

Metoda imuno-enzimatica pentru determinarea calitativa a anticorpilor de clasa IgM pentru *Legionella pneumophila* in ser uman, utilizand un dispozitiv de unica folosinta utilizat pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

CHORUS Legionella pneumophila IgM Pentru Determinarea Calitativa a Anticorpilor IgM pentru *Legionella pneumophila*

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

2. INTRODUCERE

Boala lui Legionnaire este o boala infectioasa grava cu o rata crescuta a mortalitatii. Legioneloza este definitia data tuturor formelor acestei boli cauzate de bacteriile gram-negative din specia *Legionella*. Rata totala a mortalitatii este de 5-15%, care poate ajunge la 30-50% in cazul populatiilor din unitatile spitalicesti si la 70-80% in cazul pacientilor aflati intr-o stare clinica grava sau in cazul unui tratament tardiv. Specia cel mai frecvent intalnita in patologia umana este *Legionella pneumophila*, cu toate ca alte specii au fost izolate. Cea mai severa forma a infectiei cu *Legionella* este aceea asa numita boala lui Legionnaire, caracterizata printr-o pneumonie acuta, care devine evidenta la 2-10 zile dupa contactul cu bacteriile. O alta caracteristica clinica este febra Pontiac, o infectie extra-pulmonara acuta. Exista de asemenea forme subclinice ale infectiei, fara simptome, care pot fi detectate numai prin demonstrarea seroconversiei.

Bacteriile *Legionellae* sunt foarte raspandite in natura, si sunt in general regasite in locuri unde este prezenta si apa (lacuri, rauri, izvoare termale, amplasamente ce includ si apa, si, in general, in zone umede). Incepand cu aceste surse, bacteriile *Legionellae* pot coloniza sursele artificiale de apa (sistemele civile de distributie a apei potabile, sistemele de distributie a apei ale cladirilor individuale, sistemele de aer conditionat, piscinele, fontanile, etc.), care actioneaza ca amplificatori si modalitati de raspandire a microorganismului. Infectia poate afecta intreaga populatie. Persoanele considerate ca fiind cele mai expuse riscului sunt barbatii in varsta care sunt fumatori, consumatori de alcool, cei afectati de boli cronice (infectii bronhopulmonare obstructive, disfunctii cardiovasculare si renale, diabet, etc.), si cei care au dobandit imunodeficienta in urma unei terapii (transplant de organe, tratament cu steroizi si medicamente anti-tumorale, etc.), sau cei afectati de virusul HIV.

80% dintre toate aceste cazuri raportate de legioneloza, pot fi

atribuite speciei *Legionella pneumophila* serotip 1, iar seroconversia este in general considerata ca fiind foarte eficace in identificarea infectiei. Diagnosticarea serologica a *Legionella pneumophila* dupa prima proba testata, in faza de inceput a bolii, trebuie confirmata printr-o crestere in raspunsul pozitiv in probele ulterioare recoltate la un interval de trei saptamani si la 6-8 saptamani, deoarece investigatiile clinice au indicat faptul ca niveluri semnificative ale anticorpilor specifici apar cateodata tarziu, si exista posibilitatea aparitiei anticorpilor anti-*Legionella pneumophila* in absenta legionelozei.

Raspunsul anticorpilor la infectie este in general o combinatie de IgA, IgM si IgG. Detectia prezentei IgM poate sustine diagnosticul de infectie acuta chiar daca IgM poate ramane in circulatie pentru o perioada indelungata dupa infectare.

3. PRINCIPIUL ANALIZEI

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

Antigenul, care este obtinut prin efectuarea unei culturi *Legionella pneumophila* serotip 1 si inactivat cu formaldehida, se culpeaza cu faza solida. Anticorpii specifici de clasa IgM si IgG se cupleaza cu antigenul prin incubare cu serul uman diluat. Dupa etapele de spalare desfasurate pentru a elimina proteinele care nu au reactionat, se efectueaza incubarea cu conjugatul (anticorpi monoclonali IgM anti-umani conjugati cu peroxidaza de hrean). Conjugatul care nu s-a cuplat este eliminat, si se adauga substratul de peroxidaza.

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

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

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

Indeprtarea deseurilor: dispozitivele folosite continand materiale de origine umana trebuie manevrate ca fiind materiale infectioase si eliminate conform cerintelor din acest domeniu.

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

Nu pipetati cu gura.

In timpul manevrarii specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.

Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul CHORUS.

4. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante daunatoare sau iritante:
 - a) Conjugatul contine fenol
 - b) Substratul este acid

In cazul in care vreunul dintre reactivi intra in contact cu pielea sau cu ochii, spalati zona temeinic cu apa.

5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1,0%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
6. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1,0% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

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

Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.

- i. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
- j. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv.
- k. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
- l. Verificati ca instrumentul Chorus sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare al Instrumentului Chorus).
- m. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect si nu utilizati dispozitive avand etichete deteriorate.
- n. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
- o. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument.
- p. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
- q. Utilizarea probelor puternic hemolizate sau a probelor prezentand contaminare microbiana, pot constitui surse de indicare a unei erori.
1. Inainte de a introduce dispozitivele in instrument, verificati ca godeul de reactie sa nu contina corpuri straine.
2. Resuspendati in mod omogen calibratorul congelat-uscata si serul de control, in conformitate cu volumele mentionate pe etichete.
3. Pipetati serul de testare (50 µl) in godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
4. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 81093).

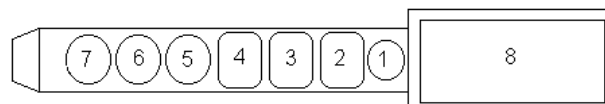
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 81093/12).

DD DISPOZITIVE

6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 81093).

2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 81093/12).

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea etichetei cu cod de bare

Pozitia 7: Goala

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Captusit cu antigeni *Legionella pneumophila* serotip 1

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII

Necaptusit

Pozitia 4: SUBSTRAT TMB

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

Pozitia 3: DILUANTUL PROBEI

Continut: Solutie proteica continand anticorpi IgG anti-umani, fenol 0.05%, Bronidox 0.02% si un indicator pentru evidentiarea prezentei serului

Pozitia 2: CONJUGAT

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

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa distribuie serul nediluat

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 mL

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

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.425 mL

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

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

WASHING BUFFER (REF 83606)

CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)

SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)

CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)

Apa distilata sau deionizata

- Sticlărie obisnuită de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exactă a 50-200 µl de soluție
- Manusi de unică folosință
- Soluție de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectioase

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA SI PASTRAREA SPECIMENELOR

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

Probele continand o cantitate mare de lipide, puternic icterice, hemolizate sau contaminate nu pot fi utilizate. Testul nu poate fi efectuat in cazul plasmiei.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.
2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul 6, Masuri de Precautie Analitice, punctele 1 si 8.
3. Distribuiti 50 µl din serul de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrument. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului Chorus.

9. VALIDAREA TESTULUI

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

Daca rezultatul serului de control continua sa se situeze in afara

intervalului acceptabil, apelati Suportul Stiintific.

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus exprima rezultatul ca fiind un INDICE (raportul dintre valoarea OD a probei si aceea a Cut-off).

Rezultatul serului de testare poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: atunci cand raportul este > 1.1

NEGATIV: atunci cand raportul este < 0.9

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 0.9 si 1.1

In cazul unui rezultat incert/echivoc, repetati testul. Daca rezultatul testului ramane in continuare incert/echivoc, recoltati o noua proba dupa 1-2 saptamani.

11. LIMITARI

Rezultatele testului trebuie interpretate cu precautie si utilizate in relatie cu informatiile disponibile in urma evaluarii clinice si cu cele provenite prin alte proceduri de diagnosticare. Probele de ser recoltate de la pacienti aflati intr-un stadiu incipient sau intr-un stadiu avansat al acestei boli, pot indica rezultate negative in mod repetat, apropiate de nivelul de baza al cut off. In astfel de cazuri se recomanda verificarea rezultatului prin efectuarea testului folosind o a doua proba, obtinuta la un interval de 7-10 zile fata de prima.

12. SPECIFICITATEA ANALITICA

Au fost testate urmatoarele 47 de probe continand substante potential interferente:

Factor reumatoid (n=6)

Bilirubina cu titru crescut (n=3)

Trigliceride (n=12)

Proteina C Reactiva (n=3)

Seruri Hemolizate (n=23)

Au fost testate urmatoarele 27 de seruri, indicate ca fiind pozitive la alte boli:

Mycoplasma pneumoniae (n=11)

Chlamydia pneumoniae (n=7)

Helicobacter pylori (n=1)

Clostridium Tetani (n=2)

TBC (n=2)

Yersinia enterocolitica (n=2)

Epstein-Barr (n=2)

Prezenta, in serul testat, a substantelor interferente mentionate mai sus, nu a modificat rezultatele testului.

13. SENSIBILITATEA SI SPECIFICITATEA DIAGNOSTICULUI

Sensibilitatea si specificitatea diagnosticului au fost testate analizand un numar de 130 de probe cu kitul DIESSE, precum si cu alt kit ELISA disponibil pe piata (ELISA Viracell). Probele indicand rezultate discordante au fost testate utilizand testul Focus IFA.

Mai jos sunt expuse pe scurt datele experimentului:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	18	5	23
	-	0	107	107
	Total	18	112	130

Sensibilitatea Diagnosticului: 100.00 % CI_{95%}: 82.41 – 100.00

Specificitatea Diagnosticului: 95.54 % CI_{95%}: 92.42 – 99.08

14. PRECIZIA

PRECIZIA IN CADRUL CICLULUI DE RULARE

	Rezultate (Indice)			Media	SD	CV%
LGM 1	2.8	3.0	3.1	2.9	0.14	4.8
LGM 2	1.1	1.0	0.8	1.0	0.15	15.0
LGM 3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.06	10.0

PRECIZIA INTRE CICLURILE DE RULARE

	Rezultate (Indice)			Media	SD	CV%
	Ziua 1	Ziua 2	Ziua 3			
LGM 1	2.8	2.7	2.2	2.6	0.36	13.8
	3.0	2.7	2.2			
	3.1	2.7	2.0			
LGM 2	1.1	1.1	0.9	1.0	0.14	14.0
	1.0	1.3	1.0			
	0.8	1.1	1.1			
LGM 3	0.5	0.5	0.4	0.5	0.07	14.0
	0.6	0.6	0.5			
	0.6	0.5	0.6			

	Data productiei
	A se utiliza inainte de
	A nu se reutiliza.
	Atentie, consultati documentele insotitoare.
	Producator
	Continut suficient pentru <n> teste
	Limitari de temperatura
	A se consulta instructiunile de utilizare
	Riscuri biologice
	Numar de catalog
	Dispozitiv medical de diagnosticare <i>In vitro</i>
	Cod lot

Produs de
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italia



15. BIBLIOGRAFIE

1. G.B. Wisdom. 1976. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243.
2. A.K. Malan, T.B. Martins, T.D. Jaskowski, H. R. Hill, C.M. Litwin. 2003 Comparaison of two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* Types 1 to 6. J. Clin. Microb. 41: 3060-3063.
3. B. Neumeister, M. Susa, B. Nowak, E. Straube, G. Ruckdeschel, J. Hacher, R. Marre. 1995 Enzyme immunoassay for detection of antibodies against isolated flagella of *Legionella pneumophila*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14 (9): 764-7.
4. N. Barka, J.P. Tomasi, S. Stadtsbaeder 1986 ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen J. Immunol. Methods 93: 77-81
5. M. S. Lever. 1993. Production and characterisation of a *Legionella pneumophila* specific monoclonal antibody. FEMS Microbiol. Lett. 1: 5-9.
6. L.B. Reller, M.P. Weinstein 2003 Diagnosis of Legionella Infection Clin. Infect. Dis. 36:64-69

16. GLOSARUL SIMBOLURILOR DE ETICHETARE