

CHORUS

**MYCOPLASMA
PNEUMONIAE**

IgA

REF 81033



DIESSE

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



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Solo per uso diagnostico in vitro

1. DESTINAZIONE D'USO

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) è un kit immunologico per la determinazione semiquantitativa automatizzata degli anticorpi IgA contro Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae è l'agente eziologico più comune che causa la polmonite acquisita in ambienti comunitari. Le IgA rappresentano il marcatore di sensibilità più elevato in caso di infezione in atto, di reinfezione o di infezione recente; pertanto, il kit viene utilizzato come ausilio nella diagnosi dell'infezione da polmonite.

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

2. INTRODUZIONE

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

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

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

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

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

L'antigene utilizzato nel test per la determinazione sierologica delle IgA specifiche, deriva da un estratto di membrana di M. pneumoniae contenente quantità significative di citoadesina P1 che rappresenta l'antigene immunodominante e corrispondente ad una proteina transmembrana, principale responsabile della citoadesione del M. pneumoniae all'epitelio respiratorio dell'ospite.

3. PRINCIPIO DEL METODO

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

L'antigene, costituito da un estratto di Mycoplasma pneumoniae inattivato, viene legato alla fase solida. Per incubazione del siero umano in esame le IgA 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 IgA umane coniugate con perossidasi di rafano.

Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.

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

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.

2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova.
3. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile sul sito DIESSE: www.diesse.it).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata.
Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

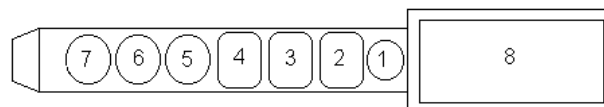
1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e la integrità del dispositivo stesso, non utilizzare dispositivi che 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.
L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
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. Non utilizzare campioni emolizzati, lipemici, itterici con una concentrazione di interferenti superiore a quella testata (secondo le indicazioni riportate nel capitolo "Specificità analitica").
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna
Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

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

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

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti IgA umane (concentrazione massima 2 µg/ml) 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.

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

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

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

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

Secondo la linea guida CLSI H18-A3 i campioni di siero da analizzare devono essere coagulati prima della centrifugazione; la coagulazione spontanea e completa avviene normalmente entro 30-60 minuti a 22°C-25°C. Si raccomanda di separare fisicamente il siero, mediante centrifugazione, dal contatto con

le cellule il più presto possibile con un limite di tempo massimo di 2 ore dal momento della raccolta.

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a temperature ≤ -20°C per un periodo non superiore a 80 mesi.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. 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".
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

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus fornisce un risultato semiquantitativo in Unità Arbitrarie (AU/ml).

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

POSITIVO quando il risultato è > 18 AU/ml

NEGATIVO quando il risultato è < 12 AU/ml

DUBBIO: quando il risultato è compreso tra 12 e 18 AU/ml

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

I risultati devono essere sempre interpretati insieme ad altri dati provenienti dalla valutazione clinica e da altre indagini diagnostiche.

Per una migliore valutazione del profilo anticorpale del campione sarebbe opportuno valutarne anche la concentrazione in IgM e in IgG

E' possibile che campioni prelevati in fase iniziale dell'infezione possano non aver ancora sviluppato anticorpi in sufficiente quantità da poter essere rilevabili; in caso di dubbio o negativo è consigliabile ripetere un prelievo a distanza di 2-3 settimane ed eseguire una nuova analisi se persistono sospetti clinici.

Si consiglia, prima dell'utilizzo di campioni lipemici, o torbidi, una centrifugazione o filtrazione.

Interpretazione dei risultati basati sulla combinazione del dosaggio di anticorpi IgG, IgM e IgA:

Livello anticorpale M. pneumoniae			
IgG	IgM	IgA	Interpretazione
negativo	negativo	negativo	nessuna indicazione di infezione
negativo o positivo	positivo	negativo o positivo	indicazione di infezione corrente
positivo	negativo	negativo	indicazione di infezione pregressa
negativo o positivo	negativo	positivo	indicazione di infezione corrente

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 0-100.0 AU/ml.

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

13. CROSS-REATTIVI

Sono stati testati 2 campioni (1 cut-off e 1 negativo) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Bilirubina (15 mg/dl – 60mg/dl)

Trigliceridi (7.5 mg/ml – 30 mg/ml)

Emoglobina (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

RF (30 IU/ml – 150 IU/ml)

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

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione, sono stati analizzati 102 campioni sia con il kit Diesse sia con altro kit del commercio. 17.

Di seguito sono schematizzati i risultati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Totale	20	82	102

Sensibilità Diagnostica: 100.0 % CI_{95%}: 83.9 – 100.0

Specificità Diagnostica: 90.2 % CI_{95%}: 81.9 – 95.0

Valore predittivo positivo (PPV): = 71.4 CI_{95%}: 62.7 – 80.2

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

15. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

PRECISIONE ALL'INTERNO DELLA SEDUTA

	No. replicati	Media AU/ml	D.S.	CV%
Camp. 1	5	10.0	0.00	0.0
Camp. 2	5	20.5	2.47	12.0
Camp. 3	4	69.4	3.46	5.0
Camp. 4	4	35.7	4.81	13.5

PRECISIONE TRA SEDUTE

	Media AU/ml			Media	D.S.	CV%
	Gior 1	Gior 2	Gior 3			
Camp. 1	20.3	20.5	24.1	21.6	2.14	9.9
Camp. 2	48.9	43.9	44.7	45.8	2.69	5.9
Camp. 3	11.9	10.3	10.0	10.7	1.02	9.5
Camp. 4	10.0	10.0	10.0	10.0	0.00	0.0
Camp. 5	55.0	55.4	57.8	56.1	1.51	2.7
Camp. 6	18.2	16.4	17.5	17.4	0.91	5.2

16. BIBLIOGRAFIA

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40:165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. SEGNALAZIONE DI INCIDENTE

Se si è verificato un incidente grave in relazione a questo dispositivo nel territorio di mercato dell'Unione Europea, si

prega di segnalarlo senza indugio al produttore e all'autorità competente del proprio Stato membro.

18. SINTESI RELATIVA ALLA SICUREZZA E ALLE PRESTAZIONI

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



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

For In Vitro Diagnostic Use Only

1. INTENDED PURPOSE

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) is an immunoassay kit for the automated semi-quantitative determination of IgA antibodies against Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae is the most common etiological agent causing pneumonia acquired in community environments. The IgA represent the highest sensitivity marker in case of an infection in progress, a reinfection, or a recent infection; therefore, the kit is used as an aid in the diagnosis of pneumonia infection.

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

2. INTRODUCTION

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

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

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

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

Specific IgA-class antibodies appear early during the infection and reach peak levels during the first 4 weeks, then declining

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

The antigen used in the test for the serological determination of the specific IgA derives from an extract of M. pneumoniae membrane. This membrane contains significant quantities of P1 adhesin that represents the immunodominant antigen and corresponds to a transmembrane protein which is the main responsible of the adherence of M. pneumoniae to the host respiratory epithelium.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

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

The antigen, composed of an extract of inactivated Mycoplasma pneumoniae is bound to the solid phase and is incubated with the human serum sample so that the specific IgA are bound to the antigen.

After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate constituted of anti-human IgA monoclonal antibodies conjugated to peroxidase.

The conjugate which has not reacted is eliminated and the peroxidase substrate is added. The blue colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the test serum.

The disposable devices contain all the reagents necessary 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 for the presence of HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling material of human origin.

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

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS instruments.

4. Refer to the Safety Data Sheet (available on DIESSE website: www.diesse.it) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1.0%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

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

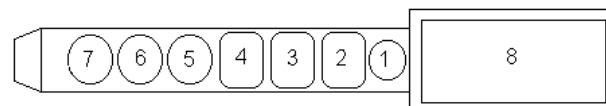
1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent.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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 determinations.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description of device:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

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

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

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

Position 2: CONJUGATE

Contents: monoclonal antibodies anti-human IgA (maximum concentration 2 µg/m) 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.

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

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

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

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated, and the run validated using the control serum (see 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 from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

According to the guideline CLSI H18-A3 Serum specimens to be tested should be clotted before centrifugation; spontaneous and complete clotting normally occurs within 30 to 60 minutes at 22°C-25°C.

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

The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at temperature ≤ -20°C, a least 32 months, and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples 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 4, Analytical Precautions.
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
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus instrument gives a semiquantitative result in AU/mL.

The test serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is >18 AU/mL
NEGATIVE: when the result is < 12 AU/mL
DOUBTFUL: when the result is in the range 12-18 AU/mL

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

11. LIMITATIONS

The test results should be used in conjunction with information available from the clinical evaluation and other diagnostic procedures.

In order to obtain a better evaluation of the antibody profile of the sample it is advisable to detect the IgM and IgG concentration as well.

Samples collected during the early phase of the infection may not have developed sufficient antibodies to be detectable; in the case of doubtful or negative results, collect a new sample after 2-3 weeks and repeat the test if clinical suspects persist.

It is advisable to centrifuge or filter lipemic or cloudy samples before testing.

Interpretation of the results based on the combined assay of IgG, IgM and IgA:

M. pneumoniae antibody level			
IgG	IgM	IgA	Interpretation
negative	negative	negative	No indication of infection
negative or positive	positive	negative or positive	Indication of infection in progress
positive	negative	negative	Indication of

			past infection
negative or positive	negative	positive	Indication of infection in progress

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 0-100.0 AU/ml.

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

13. CROSS-REACTIONS

2 samples (1cut-off and 1negative) containing potentially interfering substances were tested:

Bilirubin (15 mg/dl – 60mg/dl)

Triglycerides (7.5 mg/ml – 30 mg/ml)

Hemoglobin (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

RF (30 IU/ml – 150 IU/ml)

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

14. METHOD COMPARISON

In an experimentation, 102 samples were analyzed with the Diesse kit as well as with another commercial method.

Below are the schematized results of the trial:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Total	20	82	102

Diagnostic Sensitivity: 100.0 % CI_{95%}: 83.9 – 100.0

Diagnostic Specificity: 90.2 % CI_{95%}: 81.9 – 95.0

Positive Predicted Value (PPV) = 71.4 CI_{95%}: 62.7 – 80.2

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

15. PRECISION AND REPEATABILITY

WITHIN-RUN PRECISION

	No. of replicates	Mean AU/ml	S.D.	CV%
Sample 1	5	10.0	0.00	0.0
Sample 2	5	20.5	2.47	12.0
Sample 3	4	69.4	3.46	5.0
Sample 4	4	35.7	4.81	13.5

BETWEEN-RUNS PRECISION

		Mean AU/ml			Mean	S. D.	CV%
		Day 1	Day 2	Day 3			
Sample 1		20.3	20.5	24.1	21.6	2.14	9.9

Sample 2	48.9	43.9	44.7	45.8	2.69	5.9
Sample 3	11.9	10.3	10.0	10.7	1.02	9.5
Sample 4	10.0	10.0	10.0	10.0	0.00	0.0
Sample 5	55.0	55.4	57.8	56.1	1.51	2.7
Sample 6	18.2	16.4	17.5	17.4	0.91	5.2

16. REFERENCES

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S. S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40:165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. INCIDENT REPORTING

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

18. SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE

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



GEBRAUCHSANWEISUNG

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Nur zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik

1. VERWENDUNGSZWECK

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgA (REF 81033) ist ein immunologisches Testkit für die semiquantitative, automatisierte Bestimmung von IgA-Antikörpern gegen Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae ist der häufigste ätiologische Erreger einer in der Gemeinschaft erworbenen Lungenentzündung. IgA ist der empfindlichste Marker im Falle einer laufenden Infektion, einer erneuten Infektion oder einer kürzlich erfolgten Infektion; daher wird das Kit als Hilfsmittel bei der Diagnose einer Lungenentzündung verwendet.

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

2. EINFÜHRUNG

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

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

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

Die Immunreaktion nach einer Infektion mit Mycoplasma Pneumoniae scheint mit der Art der Infektion selbst zusammenzuhängen: Antikörper der Klasse IgM sind häufiger bei Primärinfektionen vorhanden, was durch ihr Auftreten bei jüngeren Patienten belegt wird. Bei älteren Patienten mit einer höheren Wahrscheinlichkeit einer erneuten Infektion ist IgM niedrig oder nicht nachweisbar; im Gegensatz dazu ist IgA der

Marker mit der höchsten Sensitivität bei laufenden Infektionen, erneuten Infektionen oder kürzlichen Infektionen.

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

Das im Test für die serologische Bestimmung von spezifischem IgA verwendete Antigen wird aus einem Membranextrakt von M. Pneumoniae gewonnen, der erhebliche Mengen an Cytoadhesin P1 enthält, das das immundominante Antigen ist und einem Transmembranprotein entspricht, das hauptsächlich für die Cytoadhärenz von M. Pneumoniae am respiratorischen Epithel des Wirts verantwortlich ist.

3. PRINZIP DER METHODE

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

Das Antigen, bestehend aus einem Extrakt von inaktivierten Mycoplasma Pneumoniae, ist an die feste Phase gebunden. Durch Inkubation des menschlichen Testserums bindet spezifisches IgA an das Antigen.

Nach dem Waschen zur Entfernung nicht umgesetzter Proteine erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat, das aus monoklonalen humanen Antikörpern der Klasse IgA besteht, die mit Meerrettichperoxidase konjugiert sind.

Das ungebundene Konjugat wird entfernt und das Substrat für die Peroxidase hinzugefügt.

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

Die Einweggeräte enthalten alle Reagenzien zur Durchführung des Tests bei Anbringen an den Instrumenten Chorus.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

NUR ZUR VERWENDUNG IN DER IN-VITRO-DIAGNOSTIK.

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

Entsorgung von Rückständen: Serumproben, Kalibratoren und benutzte Streifen sind als infizierte Rückstände zu

behandeln und gemäß den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Warnungen zur persönlichen Sicherheit

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Verwenden Sie beim Umgang mit den Proben und während des Tests Einweghandschuhe und einen Augenschutz.
3. Waschen Sie sich nach dem Test gründlich die Hände.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der im Kit enthaltenen Reagenzien verweisen wir auf das Sicherheitsdatenblatt (verfügbar auf der DIESSE-Website: www.diesse.it)
5. Neutralisierte Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit in ausreichender Menge desinfiziert werden, um eine Endkonzentration von mindestens 1 % zu erreichen. Eine 30-minütige Einwirkung von 1%igem Natriumhypochlorit sollte für eine wirksame Desinfektion ausreichen.
6. Verschüttetes, möglicherweise infiziertes Material muss sofort mit saugfähigem Papier entfernt werden, und der verunreinigte Bereich muss dekontaminiert werden, z. B. mit 1%igem Natriumhypochlorit, bevor die Arbeit fortgesetzt wird. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf Natriumhypochlorit erst verwendet werden, wenn der Bereich getrocknet ist.
Alle Materialien, die zur Dekontaminierung von versehentlich verschütteten Stoffen verwendet werden, einschließlich Handschuhe, müssen, als potenziell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Analytische Warnhinweise

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

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

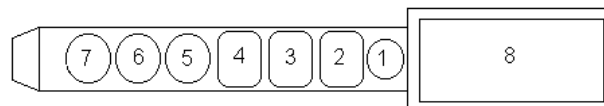
Die Verwendung des Kits ist nur mit einer aktualisierten Softwareversion möglich. Vergewissern Sie sich, dass die auf dem Instrument installierte Software mit der auf der Diesse-Website veröffentlichten Tabelle übereinstimmt oder eine höhere Release (Rel.) hat (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento>: 39/

5. Prüfen Sie, ob das Instrument Chorus richtig eingestellt ist (siehe Chorus-Benutzerhandbuch).
6. Verändern Sie den Barcode auf dem Gerätegriff nicht, damit er vom Instrument korrekt gelesen werden kann.
7. Vermeiden Sie die Verwendung von selbstabtauenden Gefriergeräten für die Probenlagerung.
8. Defekte Barcodes können manuell in das Instrument eingegeben werden.
9. Setzen Sie die Geräte während der Lagerung und Verwendung keinem starken Licht oder Hypochlorit-Dämpfen aus.
10. Verwenden Sie keine hämolysierten, lipämischen oder ikterischen Proben mit einer höheren Konzentration an Störsubstanzen als im Test (gemäß den Angaben im Kapitel „Analytische Spezifität“).
11. Verwenden Sie das Gerät nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.
12. **Vergewissern Sie sich, dass das Instrument über einen Anschluss an den Waschpuffer (Ref. 83606) verfügt.**

5. ZUSAMMENSETZUNG DES KITS UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Das Kit ist ausreichend für 36 Bestimmungen

DD GERÄTE 6 Packungen mit je 6 Geräten
Beschreibung:



Position 8: Verfügbarer Platz für Barcode-Etikett

Position 7: Leer

Platz 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

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

Position 5: VERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert.

Position 4: TMB-SUBSTRAT

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

Position 3: VERDÜNNER FÜR PROBEN

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

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: monoklonale Anti-Human-IgG-Antikörper (Höchstkonzentration 2 µg/ml), mit Peroxidase markiert, in Phosphatpufferlösung mit Phenol 0,05 % und Bronidox 0,02 %.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

Hier muss der Anwender das unverdünnte Serum abgeben.

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,175 ml

Rif. IO-09/241-C IFU 81033 – Ed.07.03.2024

Inhalt: Verdünntes Humanserum, bekannte Konzentration von Antikörpern mit Proclin und Gentamicin. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVKONTROLLE 1 x 0,425 ml

Inhalt: Verdünntes Humanserum, bekannte Konzentration von Antikörpern mit Proclin und Gentamicin. Flüssig, gebrauchsfertig.

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

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

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

SONSTIGES ERFORDERLICHES, ABER NICHT GELIEFERTES MATERIAL

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

6. LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

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

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

7. ART DER PROBEN UND LAGERUNG

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

Gemäß der CLSI-Richtlinie H18-A3 müssen die zu analysierenden Serumproben vor der Zentrifugation koaguliert werden; die spontane und vollständige Koagulation erfolgt normalerweise innerhalb von 30-60 Minuten bei 22°C-25°C. Es wird empfohlen, das Serum durch Zentrifugation so schnell wie möglich von den Zellen zu trennen, wobei die maximale Zeitspanne 2 Stunden ab dem Zeitpunkt der Entnahme beträgt. Frisches Serum ist bei 2/8°C 4 Tage lang haltbar; bei längerer Lagerung sollte es bei ≤ -20°C für höchstens 80 Monate eingefroren werden.

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

Stark lipämische, ikterische oder verunreinigte Proben können nicht verwendet werden.

8. VERFAHREN

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

9. TEST-VALIDIERUNG

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

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

Tel: 0039 0577 319554

E-Mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Das Instrument Chorus liefert ein semiquantitatives Ergebnis in willkürlichen Einheiten (AU/ml).

Der Test am Testserum kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: Wenn das Ergebnis > 18 AU/ml ist

NEGATIV: Wenn das Ergebnis < 12 AU/ml ist.

ZWEIFELHAFT: Wenn das Ergebnis zwischen 12 und 18 AU/ml liegt

Im Falle eines zweifelhaften Ergebnisses ist der Test zu wiederholen. Bleibt das Ergebnis zweifelhaft, ist die Entnahme nach 1-2 Wochen zu wiederholen.

11. GRENZEN DES TESTS

Die Ergebnisse müssen immer im Zusammenhang mit anderen Daten aus der klinischen Bewertung und anderen diagnostischen Untersuchungen interpretiert werden.

Um das Antikörperprofil der Probe besser beurteilen zu können, wäre es ratsam, auch die IgM- und IgG-Konzentration zu bestimmen.

Es ist möglich, dass Proben, die in einem frühen Stadium der Infektion entnommen wurden, noch nicht genügend Antikörper entwickelt haben, um nachweisbar zu sein; im Zweifelsfall oder bei negativen Ergebnissen ist es ratsam, eine Probe 2-3 Wochen später zu wiederholen und einen neuen Test durchzuführen, wenn der klinische Verdacht weiter besteht.

Vor der Verwendung lipämischer oder trüber Proben wird eine Zentrifugation oder Filtration empfohlen.

Auswertung der Ergebnisse auf der Grundlage einer Kombination aus IgG-, IgM- und IgA-Antikörpertest:

M. Pneumoniae-Antikörperspiegel			
IgG	IgM	IgA	Interpretation
negativ	negativ	negativ	kein Hinweis auf eine Infektion
negativ oder positiv	positiv	negativ oder positiv	Hinweis auf aktuelle Infektion
positiv	negativ	negativ	Hinweis auf eine frühere Infektion
negativ oder positiv	negativ	positiv	Hinweis auf aktuelle Infektion

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich 0-100,0 AU/ml.

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

13. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 2 Proben getestet (1 cut-off und 1 negativ), denen die folgenden Störstoffe zugesetzt wurden:

Bilirubin (15 mg/dl - 60mg/dl)

Triglyzeride (7,5 mg/ml - 30 mg/ml)

Hämoglobin (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

RF (30 IU/ml - 150 IU/ml)

Das Vorhandensein der oben genannten Störsubstanzen im Testserum verändert das Testergebnis nicht.

14. VERGLEICHENDE STUDIEN

In einem Versuch wurden 102 Proben mit Diesse-Kit und einem anderen kommerziellen Kit analysiert. 17.

Die Ergebnisse des Experiments werden im Folgenden dargestellt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Insgesamt	20	82	102

Diagnostische Sensitivität: 100,0 % CI_{95%}: 83,9 – 100,0

Diagnostische Spezifität: 90,2 % CI_{95%}: 81,9 – 95,0

Positiv prädiktiver Wert (PPV): = 71,4 CI_{95%}: 62,7 % - 80,2 %

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

15. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

PRÄZISION INNERHALB DER SITZUNG

	Anzahl der Replikate	Durchschnittswert AU/ml	Std-Abw.	CV%
Proben 1	5	10,0	0,00	0,0
Proben 2	5	20,5	2,47	12,0
Proben 3	4	69,4	3,46	5,0
Proben 4	4	35,7	4,81	13,5

PRÄZISION ZWISCHEN DEN SITZUNGEN

	Durchschnittswert AU/ml			Durchschnittswert	Std-Abw.	CV%
	Tag 1	Tag 2	Tag 3			
Proben 1	20,3	20,5	24,1	21,6	2,14	9,9
Proben 2	48,9	43,9	44,7	45,8	2,69	5,9
Proben 3	11,9	10,3	10,0	10,7	1,02	9,5
Proben 4	10,0	10,0	10,0	10,0	0,00	0,0
Proben 5	55,0	55,4	57,8	56,1	1,51	2,7
Proben 6	18,2	16,4	17,5	17,4	0,91	5,2

16. BIBLIOGRAPHIE

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

2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of *Mycoplasma pneumoniae*. *Microbiology* (2000),146,741-747
3. S. Rotten: Interaction of *Mycoplasma* With Host Cells. *Physiol.Rev.*83:417-432,2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* Infections. *J. Clin. Microbiol.* 2002 40:165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of *Mycoplasma pneumoniae* by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. *Biol.Chem* Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. VORFALLBERICHT

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

18. ZUSAMMENFASSUNG DER SICHERHEIT UND LEISTUNG

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



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. URČENÉ POUŽITÍ

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) je imunologická souprava pro semikvantitativní automatické stanovení protilátek IgA proti Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae je nejčastějším etiologickým agens způsobujícím komunitní zápal plic IgA je nejcitlivějším markerem v případě probíhající infekce, opakované infekce nebo nedávné infekce, proto se souprava používá jako pomůcka při diagnostice infekce zápalu plic.

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

2. ÚVOD

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

M. pneumoniae napadá a ničí řasinkové epitelové buňky sliznice dýchacích cest. Mikroskopicky způsobuje intersticiální pneumonii, bronchitidu a bronchiolitidu.

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

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

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

výrazným zvýšením mezi 2 odběry s odstupem přibližně dvou týdnů potvrzuje přítomnost probíhající infekce.

Antigen používaný v testu pro sérologické stanovení specifického IgA je odvozen z membránového extraktu M. pneumoniae obsahujícího významné množství cytoadhezinu P1, který je imunodominantním antigenem a odpovídá transmembránovému proteinu, zodpovědnému především za cytoadherenci M. pneumoniae k respiračnímu epitelu hostitele.

3. PRINCIP METODY

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

Antigen sestávající z extraktu inaktivované Mycoplasma pneumoniae je vázán na pevnou fázi. Inkubací lidského testovacího séra se specifický IgA váže na antigen.

Po promytí k odstranění nezreagovaných proteinů se provede inkubace s konjugátem sestávajícím z monoklonálních protilátek proti lidskému IgA konjugovaných s křenovou peroxidázou.

Nenavázaný konjugát se odstraní a přidá se substrát pro peroxidázu.

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

Jednorázová zařízení obsahují všechna činidla k provedení testu, pokud jsou použita na přístrojích Chorus.

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

POUZE PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ *IN VITRO*.

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

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

Upozornění týkající se bezpečnosti personálu

1. Nepipetujte ústy.
2. Při manipulaci se vzorky a během testu používejte jednorázové rukavice a ochranu očí.
3. Po dokončení testu si důkladně umyjte ruce.
4. Bezpečnostní charakteristiky činidel obsažených v soupravě naleznete v bezpečnostním listu (k dispozici na webových stránkách společnosti DIESSE: www.diesse.it)
5. Neutralizované kyseliny a jiné kapalné odpady by měly být dezinfikovány přidáním chlornanu sodného v dostatečném množství, aby bylo dosaženo konečné koncentrace alespoň

1 %. K zajištění účinné dezinfekce by mělo stačit působení 1% chlornanu sodného po dobu 30 minut.

6. Jakékoli rozlití potenciálně infikovaných materiálů musí být okamžitě odstraněno pomocí absorpčního papíru a znečištěný prostor musí být před pokračováním v práci dekontaminován, např. 1% chlornanem sodným. Pokud je přítomna kyselina, chlornan sodný nesmí být použit dříve, než bude zóna vysušena.

Veškeré materiály použité k dekontaminaci náhodně rozlitych látek, včetně rukavic, by měly být zlikvidovány jako potenciálně infekční odpad. Materiály s obsahem chlornanu sodného nevracíte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

- Zařízení se substrátem (jamka 4) obarveným na modro vyhodte.**
- Při přidávání vzorku do jamky zkontrolujte, zda je dokonale rozložen na dně.
- Zkontrolujte skutečnou přítomnost činidel v zařízení a neporušenost samotného zařízení, nepoužívejte zařízení, které při vizuální kontrole vykazují nedostatek některého činidla.
- Zařízení je nutné používat společně s přístrojem Chorus, přičemž je nutné striktně dodržovat návod k použití a příručku k přístroji.

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

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

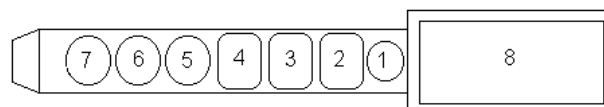
- Zkontrolujte, zda je přístroj Chorus správně nastaven (viz Uživatelská příručka Chorus).
- Čárový kód na rukojeti zařízení neměňte, aby jej přístroj správně odečetl.
- Vyhnete se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků.
- Vadné čárové kódy lze do přístroje zadat ručně.
- Během skladování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

5. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA ČINIDEL

Souprava vystačí na 36 stanovení

DD ZAŘÍZENÍ 6 balení každé po 6 zařízeních

Popis:



Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem

Pozice 7: Prázdna

Pozice 6: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Senzibilizován antigenem *Mycoplasma pneumoniae*: maximální koncentrace 2,51 µg/ml

Pozice 5: JAMKA

Nesenzibilizováno.

Pozice 4: SUBSTRÁT TMB

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

Pozice 3: ŘEDIDLO PRO VZORKY

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

Pozice 2: KONIUGOVANÉ

Obsah: monoklonální protilátky proti lidskému IgA značené peroxidázou (maximální koncentrace 2 µg/ml) ve fosfátovém pufovaném roztoku obsahujícím 0,05 % fenolu a 0,02 % Bronidoxu.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kde musí uživatel dávkovat neředěné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0,175 mL

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

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

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

Spolehlivost měření kalibrátoru a pozitivní kontroly je zaručena řetězcem sledovatelnosti popsáným níže.

Kalibrátor a pozitivní kontrola jsou vyrobeny z lidského vzorku o známé koncentraci protilátek, zředěného tak, aby bylo dosaženo specifické koncentrace, jejíž rozsah závisí na šarži a je přiřazen během fáze uvolňování kontroly kvality pomocí řady sekundárních kalibrátorů („pracovní kalibrátor“).

Pracovní kalibrátory jsou připraveny a charakterizovány podle panelu lidských referenčních sér s různými hladinami antigenu.

DALŠÍ POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVNÍ KONTROLA/ŘEDIDLO PRO VZORKY **REF** 83607
- Přístroj CHORUS/CHORUS TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda

- Běžné laboratorní sklo: válce, zkumavky atd.
- Mikropipety schopné přesně odebrat objemy 50-200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby pro sběr potenciálně infikovaných materiálů

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA ČINIDEL

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

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

Činidla mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

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

7. TYP VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

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

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

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 4 dnů při teplotě 2/8 °C; pro delší skladování je třeba jej zmrazit při teplotě ≤ -20 °C na dobu nepřesahující 80 měsíců.

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

Silně lipaemické, ikterické nebo znečištěné vzorky nelze použít.

8. POSTUP

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

9. VALIDACE TESTU

Použijte kontrolní sérum k ověření správnosti získaného výsledku jeho zpracováním podle návodu k použití přístroje.

Pokud přístroj indikuje, že kontrolní sérum má hodnotu mimo přijatelnou mez, je třeba kalibraci provést znovu. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

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

Tel.: 0039 0577 319554
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE TESTU

Přístroj Chorus poskytuje semikvantitativní výsledek v libovolných jednotkách (AU/ml).

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ je-li výsledek > 18 AU/ml

NEGATIVNÍ je-li výsledek < 12 AU/ml

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

V případě sporného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test sporný, zopakujte odběr vzorku po 1-2 týdnech.

11. OMEZENÍ TESTU

Výsledky je třeba vždy interpretovat společně s dalšími údaji z klinického hodnocení a dalších diagnostických vyšetření.

Pro lepší posouzení protilátkového profilu vzorku by bylo vhodné vyhodnotit také koncentraci IgM a IgG.

Je možné, že vzorky odebrané v raném stádiu infekce ještě nemají vytvořeno dostatečné množství protilátek, aby je bylo možné detekovat; v případě pochybností nebo negativních výsledků je vhodné vzorek zopakovat o 2-3 týdny později a provést nový test, pokud klinické podezření přetrvává.

Před použitím lipaemických nebo zakalených vzorků se doporučuje odstředění nebo filtrace.

Interpretace výsledků na základě kombinace testu na protilátky IgG, IgM a IgA:

Hladina protilátek proti M. pneumoniae			
IgG	IgM	IgA	Interpretace
negativní	negativní	negativní	žádné známky infekce
negativní nebo pozitivní	pozitivní	negativní nebo pozitivní	indikace aktuální infekce
pozitivní	negativní	negativní	indikace předchozí infekce
negativní nebo pozitivní	negativní	pozitivní	indikace aktuální infekce

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah 0-100,0 AU/ml.

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

13. ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Byly testovány 2 vzorky (1 cut-off a 1 negativní), ke kterým byly přidány následující interferenční látky:

Bilirubin (15 mg/dl – 60mg/dl)
Triglyceridy (7,5 mg/ml - 30 mg/dl)
Hemoglobin (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
RF (30 IU/ml - 150 IU/ml)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek v testovaném séru nemění výsledek testu.

14. SROVNÁVACÍ STUDIE

V jedné studii bylo analyzováno 102 vzorků pomocí souprav Diesse i jiných komerčních souprav. 17.

Výsledky studie jsou uvedeny níže:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Celkem	20	82	102

Diagnostická citlivost: 100,0% CI_{95%}: 83,9 - 100,0

Diagnostická specifita: 90,2% CI_{95%}: 81,9 - 95,0

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV): = 71,4 CI_{95%}: 62,7 - 80,2

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

15. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

PŘESNOST V RÁMCI MĚŘENÍ

	Počet opakování	Průměr (AU/ml)	D.S.	CV%
Vzorek 1	5	10,0	0,00	0,0
Vzorek 2	5	20,5	2,47	12,0
Vzorek 3	4	69,4	3,46	5,0
Vzorek 4	4	35,7	4,81	13,5

PŘESNOST MEZI MĚŘENÍMI

	Průměr (AU/ml)			Střední	D.S.	CV%
	Den 1	Den 2	Den 3			
Vzorek 1	20,3	20,5	24,1	21,6	2,14	9,9
Vzorek 2	48,9	43,9	44,7	45,8	2,69	5,9
Vzorek 3	11,9	10,3	10,0	10,7	1,02	9,5
Vzorek 4	10,0	10,0	10,0	10,0	0,00	0,0

Vzorek 5	55,0	55,4	57,8	56,1	1,51	2,7
Vzorek 6	18,2	16,4	17,5	17,4	0,91	5,2

16. BIBLIOGRAFIE

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol.Rev. 83:417-432, 2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40:165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. HLÁŠENÍ NEŽÁDOUCÍ UDÁLOSTI

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

18. SHRUTÍ TÝKAJÍCÍ SE BEZPEČNOSTI A VÝKONNOSTI

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



MODE D'EMPLOI

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Pour le diagnostic in vitro uniquement

1. UTILISATION PRÉVUE

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (RÉF. 81033) est un kit immunologique pour la détermination automatisée semi-quantitative des anticorps IgA contre Mycoplasma pneumoniae. Mycoplasma Pneumoniae est l'agent étiologique le plus courant de la pneumonie communautaire. Les IgA représentent le marqueur le plus sensible en cas d'infection en cours, de réinfection ou d'infection récente ; le kit est donc utilisé comme aide au diagnostic de l'infection par la pneumonie.

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

2. INTRODUCTION

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

M. pneumoniae attaque et détruit les cellules épithéliales ciliées de la muqueuse des voies respiratoires. Au microscope, elle provoque des pneumonies interstitielles, des bronchites et des bronchiolites.

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

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

Les anticorps spécifiques de classe A apparaissent tôt, au début de la maladie, et atteignent des titres élevés au cours des 4 premières semaines, puis diminuent brusquement avant

les IgG, ce qui permet de diagnostiquer l'infection aiguë à partir d'un seul prélèvement. Les IgG apparaissent après les IgM et les IgA, avec un pic en moyenne à la 5^e semaine. Un titre élevé, accompagné d'une augmentation significative entre deux prélèvements effectués à environ deux semaines d'intervalle, confirme la présence d'une infection en cours.

L'antigène utilisé dans le test de détermination sérologique des IgA spécifiques est dérivé d'un extrait de membrane de M. pneumoniae contenant des quantités significatives de cytoadhésine P1, qui est l'antigène immunodominant et correspond à une protéine transmembranaire, principalement responsable de la cytoadhérence de M. pneumoniae à l'épithélium respiratoire de l'hôte.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le test est basé sur la méthode ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) indirecte.

L'antigène, constitué d'un extrait de Mycoplasma pneumoniae inactivé, est lié à la phase solide. Par incubation du sérum humain examiné, les IgA spécifiques se lient à l'antigène.

Après lavage pour éliminer les protéines n'ayant pas réagi, une incubation est réalisée avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgA humaines conjugués à la peroxydase de raifort.

Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

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

Les dispositifs jetables contiennent tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test lorsqu'ils sont appliqués aux instruments Chorus.

4. PRÉCAUTIONS

POUR LE DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT.

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

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

Avertissements en matière de sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et de l'essai.

3. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
4. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit, consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur le site Internet de DIESSE : www.diesse.it).
5. Les acides neutralisés et autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant de l'hypochlorite de sodium dans un volume suffisant pour obtenir une concentration finale d'au moins 1 %. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 30 minutes devrait suffire à garantir une désinfection efficace.
6. Tout déversement de matériaux potentiellement infectés doit être immédiatement éliminé à l'aide de papier absorbant et la zone polluée doit être décontaminée, par exemple avec de l'hypochlorite de sodium à 1 %, avant de poursuivre le travail. Si un acide est présent, l'hypochlorite de sodium ne doit pas être utilisé avant que la zone ait été séchée. Tous les matériaux utilisés pour décontaminer les déversements accidentels, y compris les gants, doivent être éliminés comme des déchets potentiellement infectieux. Ne pas autoclaver les matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Avertissements analytiques

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

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

L'utilisation du kit n'est possible qu'avec une version actualisée du logiciel. S'assurer que le logiciel installé dans l'instrument corresponde ou ait une Release (Rel.) supérieure à celle indiquée dans le tableau publié sur le site web de Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

5. Vérifier que l'instrument Chorus soit correctement configuré (voir le manuel d'utilisation de Chorus).
6. Ne pas modifier le code-barres de la poignée du dispositif afin qu'il puisse être lu correctement par l'instrument.
7. Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons.
8. Les codes-barres défectueux peuvent être introduits manuellement dans l'instrument.
9. Ne pas exposer les dispositifs à une lumière forte ou à des vapeurs d'hypochlorite pendant le stockage et l'utilisation.
10. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés, lipémiques, ictériques avec une concentration d'interférents supérieure

à celle testée (selon les indications du chapitre « Spécificité analytique »).

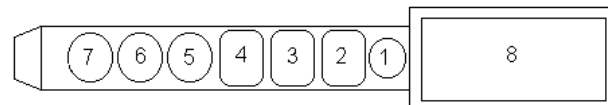
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption

12. Vérifier que l'instrument dispose d'une connexion avec le Washing Buffer (Réf. 83606)

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit est suffisant pour 36 déterminations

DD DISPOSITIFS 6 paquets de 6 dispositifs chacun
Description :



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE MICROPLAQUE

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

Position 5 : PUIITS

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine 0,26 mg/mL et H₂O₂ 0,01 % stabilisés dans un tampon citrate 0,05 mol/L (pH 3,8)

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

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

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : anticorps monoclonaux anti-IgA humaines (concentration maximale 2 µg/ml) marqués à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du Phénol à 0,05 % et du Bronidox à 0,02 %.

Position 1 : PUIITS VIDE

Où l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué.

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

CALIBRATOR ÉTALON 1 x 0,175 mL

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

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,425 mL

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

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

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

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

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER **RÉF.** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **RÉF.** 83609
- SOLUTION D'ASSAINISSEMENT **RÉF.** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **RÉF.** 83607
- Instrument CHORUS/CHORUS TRIO
- Eau distillée ou désionisée
- Verrerie de laboratoire normale : cylindres, tubes à essai, etc.
- Micropipettes capables de prélever avec précision des volumes de 50 à 200 µl.
- Gants jetables
- Solution d'hypochlorite de sodium à 5 %
- Récipients pour la collecte de matériel potentiellement infecté

6. MODE DE STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET STOCKAGE

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

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

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours à 2/8 °C ; pour des périodes de stockage plus longues, il peut être

congelé à des températures ≤ -20 °C pendant une période ne dépassant pas 80 mois.

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

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

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (côté contenant le joint à pression), retirer le nombre de dispositifs nécessaires à la réalisation des tests et conserver les autres en fermant le sachet après avoir laissé sortir l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif conformément aux instructions du chapitre 4 « Mises en garde analytiques ».
3. Répartir 50 µl de sérum non dilué à analyser dans le puits n° 1 de chaque dispositif ; À chaque changement de lot, utiliser un dispositif pour l'étalon.
4. Introduire les dispositifs sur l'instrument Chorus. Effectuer l'étalonnage (si nécessaire) et les tests conformément au manuel d'utilisation de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

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

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

Tél : 0039 0577 319554
Courriel: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'instrument Chorus fournit un résultat semi-quantitatif en Unités Arbitraires (UA/ml).

Le test sur le sérum testé peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est > 18 UA/ml
NÉGATIF : lorsque le résultat est < 12 UA/ml
DOUTEUX : lorsque le résultat se situe entre 12 et 18 UA/ml

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

11. LIMITES DU TEST

Les résultats doivent toujours être interprétés avec d'autres données provenant de l'évaluation clinique et d'autres examens diagnostiques.

Pour une meilleure évaluation du profil d'anticorps de l'échantillon, il serait souhaitable d'évaluer également sa concentration en IgM et en IgG.

Il est possible que les échantillons prélevés à un stade précoce de l'infection n'aient pas encore développé d'anticorps en quantité suffisante pour être détectables ; en cas de doute ou de résultats négatifs, il est conseillé de répéter un échantillon 2 à 3 semaines plus tard et d'effectuer une nouvelle analyse si les soupçons cliniques persistent.

Il est conseillé de procéder à une centrifugation ou à une filtration avant d'utiliser des échantillons lipémiques ou troubles. Interprétation des résultats basés sur la combinaison du dosage des anticorps IgG, IgM et IgA :

Niveau d'anticorps M. pneumoniae			
IgG	IgM	IgA	Interprétation
négatif	négatif	négatif	aucune indication d'infection
négatif ou positif	positif	négatif ou positif	indication d'une infection actuelle
positif	négatif	négatif	indication d'une infection antérieure
négatif ou positif	négatif	positif	indication d'une infection actuelle

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 0-100,0 UA/ml.

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

13. CROSS-RÉACTIFS

2 échantillons ont été testés (1 cut-off et 1 négatif) auxquels les interférents suivants ont été ajoutés :

Bilirubine (15 mg/dl - 60 mg/dl)
 Triglycérides (7,5 mg/dl - 30 mg/dl)
 Hémoglobine (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
 RF (30 UI/ml - 150 UI/ml)

La présence des substances interférentes susmentionnées dans le sérum à tester ne modifie pas le résultat du test.

14. ÉTUDES COMPARATIVES

Dans un essai, 102 échantillons ont été analysés avec des kits Diesse et un autre kit commercial. 17.

Voici un aperçu des résultats expérimentaux :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	20	8	28

-	0	74	74
Total	20	82	102

Sensibilité diagnostique : 100,0 % CI_{95%} : 83,9 – 100,0

Spécificité diagnostique : 90,2 % CI_{95%} : 81,9 – 95,0

Valeur prédictive positive (VPP) : 71,4 CI_{95%} : 62,7 – 80,2

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

15. PRÉCISION ET RÉPÉTABILITÉ

PRÉCISION AU SEIN DE LA SESSION

	Nombre de répliquats	Moyenne UA/ml	Dev. St.	CV%
Échant. 1	5	10,0	0,00	0,0
Échant. 2	5	20,5	2,47	12,0
Échant. 3	4	69,4	3,46	5,0
Échant. 4	4	35,7	4,81	13,5

PRÉCISION ENTRE LES SESSIONS

	Moyenne UA/ml			Moyenne	Dev. St.	CV%
	Jour 1	Jour 2	Jour 3			
Échant. 1	20,3	20,5	24,1	21,6	2,14	9,9
Échant. 2	48,9	43,9	44,7	45,8	2,69	5,9
Échant. 3	11,9	10,3	10,0	10,7	1,02	9,5
Échant. 4	10,0	10,0	10,0	10,0	0,00	0,0
Échant. 5	55,0	55,4	57,8	56,1	1,51	2,7
Échant. 6	18,2	16,4	17,5	17,4	0,91	5,2

16. BIBLIOGRAPHIE

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol. Rev. 83: 417-432, 2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40: 165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol. Chem. Vol. 369, pp. 1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. SIGNALISATION D'INCIDENT

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

18. RÉSUMÉ DE LA SÉCURITÉ ET DES PERFORMANCES

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



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (Κωδ. 81033) είναι ένα ανοσολογικό kit για τον ημιποσοτικό αυτοματοποιημένο προσδιορισμό των αντισωμάτων IgA έναντι του μυκοπλάσματος της πνευμονίας (Mycoplasma pneumoniae).

Το μυκόπλασμα (Mycoplasma Pneumoniae) της πνευμονίας είναι το πιο κοινό παθογόνο αίτιο πνευμονίας της κοινότητας. Τα IgA είναι ο υψηλότερος δείκτης ευαισθησίας σε περίπτωση ενεργούς λοίμωξης, επαναμόλυνσης ή πρόσφατης λοίμωξης-ως εκ τούτου, το kit χρησιμοποιείται ως βοήθημα στη διάγνωση της λοίμωξης από πνευμονία.

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

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

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

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

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

Η ανοσολογική απόκριση στη λοίμωξη από το μυκόπλασμα της πνευμονίας εξαρτάται από τον τύπο της λοίμωξης: τα αντισώματα τάξης IgM εμφανίζονται πιο συχνά σε περιπτώσεις πρωτοπαθούς λοίμωξης, όπως αποδεικνύει η συχνότητα ανίχνευσής τους σε νεότερους ασθενείς. Σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας, όπου η πιθανότητα επαναλοίμωξης είναι

μεγαλύτερη, τα αντισώματα IgM είναι χαμηλά ή δεν ανιχνεύονται αντίθετως, τα αντισώματα IgA είναι ο δείκτης με τη μεγαλύτερη ευαισθησία σε περιπτώσεις τρέχουσας λοίμωξης, επαναλοίμωξης ή πρόσφατης λοίμωξης.

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

Το αντιγόνο που χρησιμοποιείται στη δοκιμή για τον ανοσολογικό προσδιορισμό των ειδικών αντισωμάτων IgA στον ορό προέρχεται από εκχύλιση της μεμβράνης του M. της πνευμονίας και περιέχει σημαντικές ποσότητες προσκολλητίνης P1, μίας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης, η οποία αποτελεί το ανοσοκυρίαρχο αντιγόνο και είναι η κύρια υπεύθυνη για την προσκόλληση του M. της πνευμονίας στο αναπνευστικό επιθήλιο του ξενιστή.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η δοκιμασία βασίζεται στην έμμεση ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

Το αντιγόνο, που αποτελείται από εκχύλισμα αδρανικοποιημένου μυκοπλάσματος της πνευμονίας, δεσμεύεται στη στερεά φάση. Κατόπιν επώασης με το δείγμα ανθρώπινου ορού, τα ειδικά αντισώματα IgA συνδέονται με το αντιγόνο.

Αφού πραγματοποιηθούν εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται επώαση με το συζυγές που αποτελείται από μονόκλωνα αντισώματα έναντι ανθρώπινων IgA συζευγμένων με υπεροξειδάση αργιοραφάνιδων.

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση.

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

Οι συσκευές μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια για την εκτέλεση της δοκιμής όταν εφαρμόζονται στα όργανα Chorus.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

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

αντιδραστηρίων και των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους κανόνες ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

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

Προειδοποιήσεις προσωπικής ασφάλειας

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

Αναλυτικές προειδοποιήσεις

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

1. **Απορρίψτε τις συσκευές με υπόστρωμα (κυψελίδα 4) χρώματος μπλε.**
2. Κατά την προσθήκη του δείγματος στην κυψελίδα, ελέγξτε ότι το δείγμα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένο στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στη συσκευή όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιείτε συσκευές που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου.

4. Οι συσκευές πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με το όργανο Chorus, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου.

Η χρήση του κιτ είναι δυνατή μόνο με μια ενημερωμένη έκδοση λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που είναι εγκατεστημένο στο όργανο ταιριάζει ή έχει έκδοση (Rel.) υψηλότερη από τον πίνακα που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>).

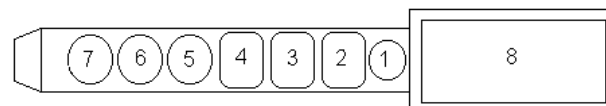
5. Ελέγξτε ότι το όργανο Chorus έχει ρυθμιστεί σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης Chorus).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό στη λαβή της συσκευής, ώστε το όργανο να μπορεί να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση δειγμάτων.
8. Οι ελαττωματικοί γραμμωτοί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

12. Ελέγξτε ότι το όργανο διαθέτει σύνδεση με το Washing Buffer (Κωδ. 83606)

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ επαρκεί για 36 προσδιορισμούς

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ 6 πακέτα των 6 συσκευών το κάθε ένα
Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: Άδεια

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

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

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: Ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IgA (μέγιστη συγκέντρωση 2 µg/ml) μαρκαρισμένα με υπεροξειδίαση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Όπου ο χρήστης πρέπει να διανείμει τον μη αραιωμένο ορό.

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 mL

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

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0.425 mL

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

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

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

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

ΆΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ

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

6. ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΤΥΠΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

Το δείγμα αποτελείται από ορό που προέρχεται από αίμα που λήφθηκε με κανονική φλεβοκέντησης και που έχει περάσει από τις διαδικασίες που απαιτούνται από τους καθιερωμένους κανονισμούς εργαστηρίου.

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

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C- για μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης, καταψύξτε σε θερμοκρασίες ≤ -20°C για χρονικό διάστημα που δεν υπερβαίνει τους 80 μήνες.

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

Δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν δείγματα με έντονη λιπαιμία, ικτερικά ή μολυσμένα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε το φακελάκι (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όλες τις συσκευές που απαιτούνται για τη διενέργεια των δοκιμών και κρατήστε τις υπόλοιπες κλείνοντας και πάλι το φακελάκι αφού αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση της συσκευής σύμφωνα με τις οδηγίες του κεφαλαίου 4 "Αναλυτικές Προειδοποιήσεις".
3. Διανείμετε 50 µl μη αραιωμένου ορού προς ανάλυση στην κυψελίδα αριθ. 1 κάθε συσκευής, σε κάθε αλλαγή παρτίδας χρησιμοποιήστε μια συσκευή βαθμονόμησης.

4. Τοποθετήστε τις συσκευές στο όργανο Chorus. Πραγματοποιήστε βαθμονόμηση (εάν απαιτείται) και τη δοκιμή σύμφωνα με το Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

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

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

Τηλ.: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Το όργανο Chorus δίνει το αποτέλεσμα του ημιποσοτικού προσδιορισμού σε αυθαίρετες μονάδες (AU/ml).

Το τεστ στο δείγμα υπό εξέταση μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ όταν το αποτέλεσμα είναι > 18 IU/ml

ΑΡΝΗΤΙΚΟ όταν το αποτέλεσμα είναι < 12 IU/ml

ΑΜΦΙΒΟΛΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι μεταξύ 12 και 18 AU/ml

Σε περίπτωση αμφίβολου αποτελέσματος, επαναλάβετε τη δοκιμή. Εάν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο, επαναλάβετε τη δειγματοληψία μετά από 1-2 εβδομάδες.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Τα αποτελέσματα πρέπει πάντα να αξιολογούνται σε συνδυασμό με άλλα δεδομένα που προέρχονται από την κλινική αξιολόγηση και άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

Για να αξιολογηθεί καλύτερα το ανοσολογικό προφίλ του δείγματος, είναι σκόπιμο να εκτιμηθεί επίσης η συγκέντρωση των αντισωμάτων IgM και IgG.

Στα δείγματα που λαμβάνονται στο αρχικό στάδιο της λοίμωξης μπορεί να μην έχει ακόμα αναπτυχθεί επαρκής ποσότητα αντισωμάτων, η οποία να είναι ανιχνεύσιμη. Εάν το αποτέλεσμα είναι αμφίβολο ή αρνητικό, συνιστάται να λαμβάνετε δεύτερο δείγμα μετά από 2-3 εβδομάδες και να επαναλαμβάνετε την ανάλυση, εάν επιμένουν τα ύποπτα κλινικά συμπτώματα.

Πριν από την ανάλυση λιπαιμικών ή θολερών δειγμάτων, συνιστάται φυγοκέντρηση ή διήθηση.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με βάση το συνδυασμό των επιπέδων αντισωμάτων IgG, IgM και IgA:

Επίπεδο αντισωμάτων M. pneumoniae			
IgG	IgM	IgA	Ερμηνεία
αρνητικό	αρνητικό	αρνητικό	καμία ένδειξη

			μόλυνσης
αρνητικό ή θετικό	θετικό	αρνητικό ή θετικό	ένδειξη τρέχουσας λοίμωξης
θετικό	αρνητικό	αρνητικό	ένδειξη προηγούμενης λοίμωξης
αρνητικό ή θετικό	αρνητικό	θετικό	ένδειξη τρέχουσας λοίμωξης

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος βαθμονόμησης 0-100.0 AU/ml.

Για δείγματα > 100.0 AU/ml επαναλάβετε τη δοκιμή αραιώνοντας προηγουμένως το δείγμα σε Αρνητικό Μάρτυρα/Αραιωτικό δείγματος (PF83607- δεν παρέχεται με το κιτ).

13. ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Εξετάστηκαν 2 δείγματα (1 cut-off και 1 αρνητικό) στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθοι παρεμβαλλόμενοι παράγοντες:

Χολερυθρίνη (15 mg/dl – 60mg/dl)

Τριγλυκερίδια (7.5 mg/dl - 30 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)

Ρευματοειδής παράγων (30 IU/ml - 150 IU/ml)

Η παρουσία των ανωτέρω ουσιών παρεμβολής στον ορό υπό εξέταση δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα της εξέτασης.

14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος, αναλύθηκαν 102 δείγματα με το κιτ Diesse και ένα άλλο εμπορικό κιτ. 17.

Ακολουθεί συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Σύνολο	20	82	102

Διαγνωστική ευαισθησία: 100.0 % CI_{95%}: 83.9 – 100.0

Διαγνωστική ειδικότητα: 90.2 % CI_{95%}: 81.9 – 95.0

Θετική προγνωστική αξία (PPV): = 71,4 CI_{95%}: 62.7 – 80.2

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

15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΕΝΤΟΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ

Αριθμός επαναλή	Μέση τιμή	D.S.	CV%
-----------------	-----------	------	-----

	ψεων	(AU/ml)		
Δείγμα 1	5	10.0	0.00	0.0
Δείγμα 2	5	20.5	2.47	12.0
Δείγμα 3	4	69.4	3.46	5.0
Δείγμα 4	4	35.7	4.81	13.5

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΚΥΚΛΩΝ

	Μέση τιμή (AU/ml)			Μέση τιμή	D.S.	CV%
	Ημ. 1	Ημ. 2	Ημ. 3			
Δείγμα 1	20.3	20.5	24.1	21.6	2.14	9.9
Δείγμα 2	48.9	43.9	44.7	45.8	2.69	5.9
Δείγμα 3	11.9	10.3	10.0	10.7	1.02	9.5
Δείγμα 4	10.0	10.0	10.0	10.0	0.00	0.0
Δείγμα 5	55.0	55.4	57.8	56.1	1.51	2.7
Δείγμα 6	18.2	16.4	17.5	17.4	0.91	5.2

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40:165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. ΑΝΑΦΟΡΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ

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

18. ΣΥΝΟΨΗ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΟΣΕΩΝ

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



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Sólo para uso diagnóstico in vitro

1. USO PREVISTO

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) es un kit inmunológico para la determinación semicuantitativa automatizada de anticuerpos IgA contra Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae es el agente etiológico más común causante de neumonía adquirida en la comunidad. IgA es el marcador de mayor sensibilidad en caso de infección en curso, reinfección o infección reciente; por lo tanto, el kit se utiliza como ayuda en el diagnóstico de la infección por neumonía.

La prueba, realizada en suero humano mediante un dispositivo desechable acoplado a los instrumentos CHORUS y CHORUS TRIO, sólo debe ser utilizada por personal de laboratorio profesional.

2. INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

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

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

El antígeno utilizado en la prueba para la determinación serológica de IgA específica, se deriva de un extracto de membrana de M. pneumoniae que contiene cantidades significativas de citoadhesina P1, que es el antígeno inmunodominante y corresponde a una proteína transmembrana, principal responsable de la citoaderencia de M. pneumoniae al epitelio respiratorio del huésped.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

El antígeno, consistente en un extracto de Mycoplasma pneumoniae inactivado, se une a la fase sólida. Por incubación del suero humano de prueba, la IgA específica se une al antígeno.

Tras el lavado para eliminar las proteínas que no han reaccionado, se realiza la incubación con el conjugado consistente en anticuerpos monoclonales anti-IgA humanos conjugados con peroxidasa de rábano picante.

Se elimina el conjugado no unido y se añade el sustrato para la peroxidasa.

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

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se aplican a los instrumentos Chorus.

4. PRECAUCIONES

SÓLO PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO.

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

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

Advertencias de seguridad personal

1. No pipetear con la boca.
2. Utilizar guantes desechables y protección ocular al manipular las muestras y durante la prueba.
3. Lavarse bien las manos una vez finalizada la prueba.
4. En cuanto a las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consulte la ficha de datos de seguridad (disponible en el sitio web de DIESSE: www.diesse.it).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos deben desinfectarse añadiendo hipoclorito sódico en volumen suficiente para alcanzar una concentración final de al menos el 1%. Una exposición al 1% de hipoclorito sódico durante 30 minutos debería ser suficiente para garantizar una desinfección eficaz.
6. Cualquier derrame de materiales potencialmente infectados debe retirarse inmediatamente con papel absorbente y la zona contaminada debe descontaminarse, por ejemplo con hipoclorito sódico al 1%, antes de continuar el trabajo. Si hay un ácido presente, no debe utilizarse hipoclorito sódico hasta que la zona se haya secado.
Todos los materiales utilizados para descontaminar derrames accidentales, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos potencialmente infecciosos. No esterilizar en autoclave materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias analíticas

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

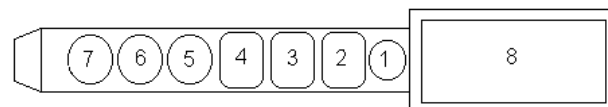
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) coloreado de azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, compruebe que esté perfectamente distribuida en el fondo.
3. Compruebe la presencia real de los reactivos en el dispositivo y la integridad del propio dispositivo; no utilice dispositivos que en una inspección visual muestren falta de reactivos.
4. Los dispositivos deben utilizarse junto con el instrumento Chorus, siguiendo estrictamente las instrucciones de uso y el manual del instrumento.
El uso del kit sólo es posible con una versión de software actualizada. Asegúrese de que el software instalado en el instrumento coincide o tiene una versión (Rel.) superior a la de la tabla publicada en el sitio web de Diesse.
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Compruebe que el aparato Chorus esté correctamente configurado (véase el manual del usuario Chorus).
6. No altere el código de barras del mango del aparato para que éste pueda leerse correctamente.
7. Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos pueden introducirse manualmente en el instrumento.
9. No exponga los aparatos a una luz intensa ni a vapores de hipoclorito durante su almacenamiento y uso.

10. No utilizar muestras hemolizadas, lipémicas, ictericas con una concentración de interferentes superior a la analizada (según las indicaciones del capítulo "Especificidad analítica").
11. No utilice el aparato después de la fecha de caducidad.
12. **Compruebe que el instrumento dispone de una conexión con el Tampón de Lavado (Ref. 83606)**

5. COMPOSICIÓN DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El kit es suficiente para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 paquetes de 6 dispositivos cada uno
Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta de código de barras

Posición 7: Vacía

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

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

Posición 5: POCILLO

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgA humanos marcados con peroxidasa (concentración máxima 2 µg/ml) en solución amortiguadora de fosfato que contiene 0,05% de fenol y Bronidox 0,02%.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde el usuario debe dispensar el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,175 ml

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

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,425 ml

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

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

El calibrador y el control positivo se producen a partir de una muestra humana con una concentración conocida de antígenos diluida para alcanzar una concentración específica, cuyo rango depende del lote y se asigna durante la fase de liberación del control de calidad utilizando una serie de calibradores secundarios ("calibradores de trabajo").

Los calibradores de trabajo se preparan y caracterizan según un panel de sueros humanos de referencia con diferentes niveles de antígenos.

OTRO MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- TAMPÓN DE LAVADO [REF] 83606
- SOLUCIÓN LIMPIADORA 2000 [REF] 83609
- SOLUCIÓN DESINFECTANTE [REF] 83604 - 83608
- CHORUS CONTROL NEGATIVO/ DILUYENTE DE MUESTRAS [REF] 83607
- Instrumento CHORUS/CHORUS TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de vidrio normal de laboratorio: cilindros, probetas, etc.
- Micropipetas capaces de tomar con precisión volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito sódico al 5%
- Contenedores para la recogida de materiales potencialmente infectados

6. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

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

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

El suero fresco puede conservarse durante 4 días a 2/8°C; para periodos de almacenamiento más largos, congélalo a temperaturas de ≤ -20°C por un periodo no superior a 80 meses.

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

No pueden utilizarse muestras fuertemente lipémicas, ictericas o contaminadas.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abra el sobre (lado que contiene el sello de presión), saque el número de dispositivos necesarios para realizar los exámenes y conserve los demás cerrando de nuevo el sobre tras dejar salir el aire.
2. Compruebe visualmente el estado del aparato según las instrucciones del capítulo 4 "Advertencias analíticas".
3. Dispense 50 µl de suero no diluido a analizar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo, en cada cambio de lote utilice un dispositivo calibrador.
4. Coloque los dispositivos en el instrumento Chorus. Realice la calibración (si es necesario) y la prueba tal como se indica en el Manual de instrucciones del instrumento.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBAS

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El instrumento Chorus proporciona un resultado semicuantitativo en Unidades Arbitrarias (AU/ml).

La prueba del suero problema puede interpretarse del siguiente modo:

POSITIVO: cuando el resultado es > 18 AU/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es < 12 AU/ml

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

En caso de resultado dudoso, repita la prueba. Si el resultado sigue siendo dudoso, repita la muestra al cabo de 1-2 semanas.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Los resultados deben interpretarse siempre junto con otros datos de la evaluación clínica y otras investigaciones diagnósticas.

Para una mejor evaluación del perfil de anticuerpos de la muestra, sería aconsejable evaluar también su concentración de IgM e IgG

Es posible que las muestras tomadas en una fase temprana de la infección aún no hayan desarrollado anticuerpos en cantidad suficiente para ser detectables; en caso de duda o de resultados negativos, es aconsejable repetir una muestra 2-3 semanas más tarde y realizar una nueva prueba si persisten las sospechas clínicas.

Se recomienda centrifugar o filtrar antes de utilizar muestras lipémicas o turbias.

Interpretación de los resultados basada en una combinación de la prueba de anticuerpos IgG, IgM e IgA:

Nivel de anticuerpos contra <i>M. pneumoniae</i>			
IgG	IgM	IgA	Interpretación
negativo	negativo	negativo	no hay indicios de infección
negativo o positivo	positivo	negativo o positivo	indicación de infección actual
positivo	negativo	negativo	indicios de infección previa
negativo o positivo	negativo	positivo	indicación de infección actual

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 0-100,0 AU/ml.

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

13. REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizaron 2 muestras (1 Cut-off y 1 negativa) a las que se añadieron los siguientes interferentes:

Bilirrubina (15 mg/dl - 60 mg/dl)
 Triglicéridos (7,5 mg/dl - 30 mg/dl)
 Hemoglobina (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
 RF (30 UI/ml - 150 UI/ml)

La presencia de sustancias interferentes mencionadas en el suero de prueba no altera el resultado de la prueba.

14. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En un ensayo, se analizaron 102 muestras con kits Diesse y otro kit comercial. 17.

A continuación se resumen los resultados de la experimentación:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Total	20	82	102

Sensibilidad diagnóstica: 100,0 % CI_{95%}: 83,9 - 100,0

Especificidad diagnóstica: 90,2 % CI_{95%}: 81,9 - 95,0

Valor predictivo positivo (VPP): = 71,4 CI_{95%}: 62,7 - 80,2

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

15. PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

PRECISIÓN EN LA SESIÓN

	N.º de réplicas	Media AU/ml	D.S.	CV%
Muest. 1	5	10,0	0,00	0,0
Muest. 2	5	20,5	2,47	12,0
Muest. 3	4	69,4	3,46	5,0
Muest. 4	4	35,7	4,81	13,5

PRECISIÓN ENTRE SESIONES

	Media AU/ml			Media	D.S.	CV%
	Día 1	Día 2	Día 3			
Muest. 1	20,3	20,5	24,1	21,6	2,14	9,9
Muest. 2	48,9	43,9	44,7	45,8	2,69	5,9
Muest. 3	11,9	10,3	10,0	10,7	1,02	9,5
Muest. 4	10,0	10,0	10,0	10,0	0,00	0,0
Muest. 5	55,0	55,4	57,8	56,1	1,51	2,7
Muest. 6	18,2	16,4	17,5	17,4	0,91	5,2

16. BIBLIOGRAFÍA

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

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

17. NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES

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

18. RESUMEN DE SEGURIDAD Y RENDIMIENTO

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



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Apenas para utilização em diagnóstico in vitro

1. UTILIZAÇÃO PREVISTA

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) é um kit imunológico para a determinação automatizada semi-quantitativa de anticorpos IgA contra Mycoplasma pneumoniae. Mycoplasma Pneumoniae é o agente etiológico mais comum que causa pneumonia adquirida em ambientes comunitários. As IgA representam o marcador de maior sensibilidade em caso de infecção em curso, reinfeção ou infecção recente; por conseguinte, o kit é utilizado como auxiliar no diagnóstico da infecção por pneumonia.

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

2. INTRODUÇÃO

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

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

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

A resposta imunitária após a infecção por Mycoplasma pneumoniae parece estar relacionada com o tipo de infecção em si: os anticorpos da classe IgM estão presentes mais frequentemente em casos de infecção primária, como evidenciado pela sua ocorrência em doentes mais jovens. Em doentes mais velhos com uma maior probabilidade de reinfeção, a IgM é baixa ou indetectável; em contraste, a IgA é o marcador de maior sensibilidade em infecções em curso, reinfeções ou infecções recentes.

Os anticorpos específicos da classe A aparecem precocemente, no início da doença, e atingem títulos elevados

nas primeiras 4 semanas, decaindo depois abruptamente antes da IgG, o que permite o diagnóstico da infecção aguda mesmo com uma única amostra de sangue. As IgG aparecem depois das IgM e IgA, em média atingem o pico máximo na 5ª semana. Um título elevado, acompanhado de um aumento significativo entre duas colheitas com cerca de 2 semanas de intervalo, confirma a presença de uma infecção em curso.

O antígeno utilizado no teste para a determinação serológica de IgA específica é derivado de um extrato de membrana de M. pneumoniae que contém quantidades significativas de citoadesina P1, que é o antígeno imunodominante e corresponde a uma proteína transmembranar, principalmente responsável pela citoaderência de M. pneumoniae ao epitélio respiratório do hospedeiro.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

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

O antígeno, constituído por um extrato de Mycoplasma pneumoniae inativado, é ligado à fase sólida. Através da incubação do soro humano de teste, a IgA específica liga-se ao antígeno.

Após lavagem para remover as proteínas que não reagiram, procede-se à incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti-IgG humana conjugados com peroxidase de rábano.

O conjugado não ligado é removido e é adicionado o substrato para a peroxidase.

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

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos Chorus.

4. PRECAUÇÕES

PARA USO EXCLUSIVO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO.

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

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

Avisos de segurança pessoal

1. Não pipetar com a boca.

2. Utilizar luvas descartáveis e proteção ocular ao manusear as amostras e durante o teste.
3. Lavar bem as mãos depois de terminado o teste.
4. Relativamente às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Dados de Segurança (disponível no sítio Web da DIESSE: www.diesse.it).
5. Os ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados por adição de hipoclorito de sódio em volume suficiente para se obter uma concentração final de, pelo menos, 1%. Uma exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deve ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Qualquer derrame de materiais potencialmente infetados deve ser imediatamente removido com papel absorvente e a área contaminada deve ser descontaminada, por exemplo, com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não deve ser utilizado até que a área tenha sido seca.
Todos os materiais utilizados para descontaminar derrames acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infecciosos. Não autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Avisos analíticos

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

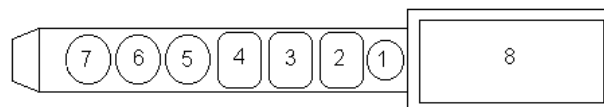
1. **Rejeitar os dispositivos com substrato (compartimento 4) de cor azul.**
2. Ao adicionar a amostra ao compartimento, verificar se está perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença real dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que revelem a falta de algum reagente numa inspeção visual.
4. Os dispositivos devem ser utilizados em conjunto com o instrumento Chorus, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.
A utilização do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou tem uma versão (Rel.) superior à tabela publicada no sítio Web da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>).
5. Verifique em se o instrumento Chorus está corretamente configurado (consulte o Manual do Chorus).
6. Não alterar o código de barras do punho do dispositivo para permitir a sua leitura correta pelo aparelho.
7. Evitar a utilização de congeladores de auto-descongelção para o armazenamento de amostras.
8. Os códigos de barras defeituosos podem ser introduzidos manualmente no instrumento.
9. Não expor os dispositivos a luz intensa ou a vapores de hipoclorito durante o armazenamento e a utilização.

10. Não utilizar amostras hemolisadas, lipémicas ou ictericas com uma concentração de interferentes superior à testada (de acordo com as indicações do capítulo "Especificidade analítica").
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade
12. **Verificar se o instrumento tem uma ligação ao Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada
Descrição:



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

Posição 7: Vazio

Posição 6: COMPARTIMENTO DE MICROPLACA

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

Posição 5: COMPARTIMENTO

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

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

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgA humanos marcados com peroxidase (concentração máxima de 2 µg/ml) em solução tampão fosfato contendo 0,05% de fenol e Bronidox 0,02%.

Posição 1: COMPARTIMENTO VAZIO

Onde o utilizador deve dispensar o soro não diluído.

Utilização: equilibrar um envelope à temperatura ambiente,

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,175 ml

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

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,425 ml

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

A fiabilidade das medições do Calibrador e do Controlo Positivo é garantida pela cadeia de rastreabilidade descrita a seguir.

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

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

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Instrumento CHORUS/CHORUS TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Material de vidro normal de laboratório: cilindros, tubos de ensaio, etc.
- Micropipetas capazes de recolher com exatidão volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Contentores para a recolha de materiais potencialmente infetados

6. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E ARMAZENAMENTO

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

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

O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias a 2/8°C; para períodos de armazenamento mais longos, congelar a temperaturas $\leq -20^{\circ}\text{C}$ por um período não superior a 80 meses.

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

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

Tel: 0039 0577 319554
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus fornece um resultado semi-quantitativo em unidades arbitrárias (AU/ml).

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

POSITIVO quando o resultado for $> 18 \text{ AU/ml}$

NEGATIVO quando o resultado for $< 12 \text{ AU/ml}$

DUVIDOSO: quando o resultado se situa entre 12 e 18 AU/ml

Em caso de resultado duvidoso, repetir o teste. Se o resultado continuar a ser duvidoso/equívoco, repetir a amostra após 1-2 semanas.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com outros dados da avaliação clínica e de outros exames de diagnóstico.

Para uma melhor avaliação do perfil de anticorpos da amostra, seria aconselhável avaliar também a sua concentração de IgM e IgG

É possível que as amostras colhidas numa fase inicial da infeção não tenham ainda desenvolvido anticorpos em quantidade suficiente para serem detetáveis; em caso de dúvida ou de resultados negativos, é aconselhável repetir uma amostra 2-3 semanas mais tarde e efetuar um novo teste se as suspeitas clínicas persistirem.

Recomenda-se a centrifugação ou filtração antes de utilizar amostras lipémicas ou turvas.

Interpretação dos resultados com base na combinação do ensaio de anticorpos IgG, IgM e IgA:

Nível de anticorpos contra <i>M. pneumoniae</i>			
IgG	IgM	IgA	Interpretação
negativo	negativo	negativo	nenhuma indicação de infeção
negativo ou positivo	positivo	negativo ou positivo	indicação de infeção atual
positivo	negativo	negativo	indicação de infeção anterior
negativo ou positivo	negativo	positivo	indicação de infeção atual

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

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

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

13. CROSS-REATIVOS

Foram testadas 2 amostras (1 cut-off e 1 negativo) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Bilirrubina (15 mg/dl – 60mg/dl)

Triglicéridos (7,5 mg/ml – 30 mg/ml)

Hemoglobina (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

RF (30 IU/ml – 150 IU/ml)

A presença das substâncias interferentes acima referidas no soro testado não altera o resultado do teste.

14. ESTUDOS COMPARATIVOS

Num ensaio, foram analisadas 102 amostras com kits Diesse e outros kits comerciais. 17.

Segue-se um diagrama dos resultados experimentais:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Total	20	82	102

Sensibilidade de diagnóstico: 100,0 % CI_{95%}: 83,9 – 100,0

Especificidade de diagnóstico: 90,2 % CI_{95%}: 81,9 – 95,0

Valor preditivo positivo (PPV): = 71,4 CI_{95%}: 62,7 – 80,2

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

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

PRECISÃO NA SESSÃO

	Nº de réplicas	Média (AU/ml)	D.S.	CV%
Camp. 1	5	10.0	0.00	0.0
Camp. 2	5	20.5	2.47	12.0
Camp. 3	4	69.4	3.46	5.0
Camp. 4	4	35.7	4.81	13.5

PRECISÃO ENTRE SESSÕES

	Média (AU/ml)			Media	D.S.	CV%
	Dia 1	Dia 2	Dia 3			
Amostra 1	20.3	20.5	24.1	21.6	2.14	9.9
Amostra 2	48.9	43.9	44.7	45.8	2.69	5.9
Amostra 3	11.9	10.3	10.0	10.7	1.02	9.5
Amostra 4	10.0	10.0	10.0	10.0	0.00	0.0
Amostra 5	55.0	55.4	57.8	56.1	1.51	2.7
Amostra 6	18.2	16.4	17.5	17.4	0.91	5.2

16. BIBLIOGRAFIA

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of *Mycoplasma pneumoniae*. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S. Rotten: Interaction of *Mycoplasma* With Host Cells. Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40:165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of *Mycoplasma pneumoniae* by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. COMUNICAÇÃO DE ACIDENTES

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

18. RESUMO DA SEGURANÇA E DO DESEMPENHO

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



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Numai pentru diagnosticare in vitro

1. UTILIZAREA PREVĂZUTĂ

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) este un kit imunologic pentru determinarea automată semicantitativă a anticorpilor IgA împotriva Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae este cel mai frecvent agent etiologic care cauzează pneumonia dobândită în comunitate. IgA este markerul cu cea mai mare sensibilitate în cazul unei infecții în curs, al unei reinfecții sau al unei infecții recente; prin urmare, kitul este utilizat ca un ajutor în diagnosticarea infecției cu pneumonie.

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

2. INTRODUCERE

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

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

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

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

Anticorpilor specifici de clasă A apar precoce, la debutul bolii și ating titluri ridicate în primele 4 săptămâni, apoi scad brusc în fața IgG, permițând diagnosticarea infecției acute chiar și cu o singură recoltare. IgG apare după IgM și IgA, atingând în medie

vârful în săptămâna 5. Un titlu ridicat, însoțit de o creștere semnificativă între două recoltări la aproximativ două săptămâni distanță, confirmă prezența unei infecții în curs.

Antigenul utilizat în testul pentru determinarea serologică a IgA specifice derivă dintr-un extract de membrană de M. pneumoniae care conține cantități semnificative de citoadezină P1, care este antigenul imunodominant și corespunde unei proteine transmembranare, responsabilă în principal de citoaderența M. pneumoniae la epiteliul respirator al gazdei.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul se bazează pe metoda indirectă ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Antigenul, care constă într-un extract de Mycoplasma pneumoniae inactivat, este legat de faza solidă. Prin incubarea serului uman de testare, IgA specifice se leagă de antigen.

După spălare, pentru a îndepărta proteinele care nu au reacționat, se efectuează incubarea cu conjugatul constând din anticorpi monoclonali anti-IgA umani conjugați cu peroxidază de hrean.

Conjugatul nelegat este îndepărtat și se adaugă substratul pentru peroxidază.

Culoarea albastră care se dezvoltă este proporțională cu concentrația de anticorpi specifici prezenți în serul examinat.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului când sunt aplicate la instrumentele Chorus.

4. PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO.

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

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

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați probele și în timpul testului.
3. Spălați-vă bine pe mâini după terminarea testului.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibilă pe site-ul DIESSE: www.diesse.it)
5. Acizii neutralizați și alte deșeurile lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu într-un volum

suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la hipoclorit de sodiu 1% timp de 30 de minute ar trebui să fie suficientă pentru a asigura o dezinfecție eficientă.

- Orice scurgeri de materiale potențial infectat trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă este prezent un acid, hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat până când zona nu a fost uscată.

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

Avertismente analitice

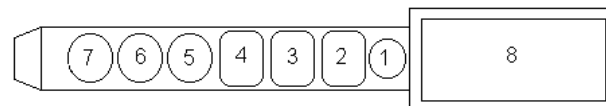
Înainte de utilizare, aduceți dispozitivele care urmează să fie utilizate la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 30 de minute și utilizați-le în interval de 60 de minute.

- Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 4) colorat în albastru.**
 - Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
 - Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză; nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi.
 - Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul Chorus, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul instrumentului.
- Utilizarea kitului este posibilă numai cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument coincide sau are o Versiune (Ver.) mai recentă decât cea prezentată în tabelul publicat pe site-ul DIESSE (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
- Verificați dacă instrumentul Chorus este setat corect (vezi Manualul de utilizare Chorus).
 - Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului, pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
 - Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
 - Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument.
 - Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
 - A nu se utiliza probe hemolizate, lipemice, icterice cu o concentrație de interferenți mai mare decât cea testată (conform indicațiilor furnizate în capitolul „Specificitatea analitică”).
 - Nu utilizați dispozitivul după data de expirare
 - Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare (Ref. 83606)**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare
Descriere:



Poziția 8: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 7: Goală

Poziția 6: GODEU DE MICROPLACĂ

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

Poziția 5: GODEU

Nesensibilizat.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

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

Poziția 3: DILUANT PENTRU PROBE

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

Poziția 2: CONJUGAT

Conține: anticorpi monoclonali IgA umani marcați cu peroxidază (concentrație maximă 2 µg/ml) în soluție tamponată cu fosfat care conține 0,05% fenol și Bronidox 0,02%.

Poziția 1: GODEU GOL

Unde utilizatorul trebuie să distribuie serul nediluat.

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,175 mL

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

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,425 mL

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

Fiabilitatea măsurătorilor calibratorului și ale controlului pozitiv este garantată de procesul de trasabilitate descris mai jos.

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

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

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER **REF** 83606

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

6. METODE DE PĂSTRARE ȘI STABILITATE A REACTIVILOR

Reactivii trebuie păstrați la 2/8°C. În cazul unei temperaturi de depozitare incorecte, calibrarea trebuie repetată și trebuie verificată corectitudinea rezultatului prin intermediul serului de control (vezi capitolul 9: Validarea testului).

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

Reactivii au stabilitate limitată după deschidere și/sau preparare:

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

7. TIPUL DE PROBE ȘI DEPOZITARE

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

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

Serul proaspăt se poate păstra timp de 4 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați-l la temperaturi ≤ -20°C pentru o perioadă care nu depășește 80 de luni.

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

Nu trebuie utilizate probe puternic lipemice, icterice sau poluate.

8. PROCEDURA

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

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați serul de control pentru a verifica corectitudinea rezultatului obținut, procesându-l așa cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul semnalează că serul de control are o valoare în afara limitei acceptabile, este necesar să se efectueze din nou calibrarea. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

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

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

10. INTERPRETAREA TESTULUI

Instrumentul Chorus oferă un rezultat semicantitativ în Unități Arbitrare (AU/ml).

Testul pe serul examinat poate fi interpretat astfel:

POZITIV: când rezultatul este > 18 AU/ml

POZITIV: când rezultatul este > 12 AU/ml

ÎNDOIELNIC: când rezultatul este cuprins între 12 și 18 AU/ml

În cazul unui rezultat îndoielnic, repetați testul. Dacă rezultatul rămâne îndoielnic, repetați prelevarea după 1-2 săptămâni.

11. LIMITĂRILE TESTULUI

Rezultatele trebuie interpretate întotdeauna împreună cu alte date din evaluarea clinică și alte investigații de diagnosticare.

Pentru o mai bună evaluare a profilului de anticorpi al probei, ar fi recomandabil să se evalueze și concentrația de IgM și IgG. Este posibil ca probele prelevate într-un stadiu incipient al infecției să nu fi dezvoltat încă anticorpi în cantitate suficientă pentru a fi detectați; în caz de îndoială sau de rezultate negative, se recomandă repetarea unei recoltări după 2-3 săptămâni și efectuarea unui nou test dacă persistă suspiciunile clinice.

Se recomandă centrifugarea sau filtrarea înainte de a utiliza probe lipemice sau tulburi.

Interpretarea rezultatelor pe baza unei combinații de teste de detectare a anticorpilor IgG, IgM și IgA:

Nivelul anticorpilor M. pneumoniae			
IgG	IgM	IgA	Interpretare
negativ	negativ	negativ	niciun indiciu de infecție
negativ sau pozitiv	pozitiv	negativ sau pozitiv	indiciu de infecție curentă
pozitiv	negativ	negativ	indiciu de infecție anterioară
negativ sau pozitiv	negativ	pozitiv	indiciu de infecție curentă

12. INTERVALUL DE CALIBRARE

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

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

13. CROSS-REACTIVI

Au fost testate 2 probe (1 cut-off și 1 negativă) la care s-au adăugat următorii interferenți:

Bilirubină (15 mg/dl – 60 mg/dl)

Trigliceride (7,5 mg/ml – 30 mg/ml)

Hemoglobină (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

RF (30 IU/ml – 150 IU/ml)

Prezența substanțelor interferente de mai sus în serul examinat nu modifică rezultatul testului.

14. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment, au fost analizate 102 de probe atât cu kitul Diesse cât și cu un alt kit disponibil în comerț. 17

În continuare sunt prezentate pe scurt rezultatele obținute în urma experimentului:

		Referință		
		+	-	Total
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Total	20	82	102

Sensibilitate de diagnostic: 100,0 % CI₉₅ %: 83,9 – 100,0

Specificitate de diagnostic: 90,2 % CI₉₅ %: 81,9 – 95,0

Valoare predictivă pozitivă (PPV): = 71,4 CI₉₅ %: 62,7 – 80,2

Valoarea predictivă negativă (NPV): = 100,0 CI₉₅ %: 100,0 – 100,0

15. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

PRECIZIE ÎN TIMPUL ȘEDINȚEI

	Nr. replici	Medie AU/ml	D.S.	CV%
Camp. 1	5	10,0	0,00	0,0
Camp. 2	5	20,5	2,47	12,0
Camp. 3	4	69,4	3,46	5,0
Camp. 4	4	35,7	4,81	13,5

PRECIZIE ÎNTRE ȘEDINȚE

	Medie AU/ml			Medie	D.S.	CV%
	Ziua 1	Ziua 2	Ziua 3			
Camp. 1	20,3	20,5	24,1	21,6	2,14	9,9
Camp. 2	48,9	43,9	44,7	45,8	2,69	5,9
Camp. 3	11,9	10,3	10,0	10,7	1,02	9,5
Camp. 4	10,0	10,0	10,0	10,0	0,00	0,0
Camp. 5	55,0	55,4	57,8	56,1	1,51	2,7
Camp. 6	18,2	16,4	17,5	17,4	0,91	5,2

16. BIBLIOGRAFIE

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40:165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17 RAPORTAREA UN ACCIDENT

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

18. REZUMAT PRIVIND SIGURANȚA ȘI PERFORMANȚA

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



UPUTE ZA UPORABU

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu

1. NAMJENA

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) je imunološki komplet za automatizirano polukvantitativno određivanje IgA protutijela protiv Mycoplasma pneumoniae. Mycoplasma Pneumoniae najčešći je etiološki uzročnik koji uzrokuje upalu pluća stečenu u zajednici. IgA je najveći marker osjetljivosti u slučaju aktivne infekcije, ponovne infekcije ili nedavne infekcije; stoga se komplet koristi kao pomoć u dijagnostici infekcije upalom pluća. Test, koji se provodi na ljudskom serumu pomoću jednokratnog uređaja primijenjenog na instrumente CHORUS i CHORUS TRIO, smije koristiti samo stručno laboratorijsko osoblje.

2. UVOD

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

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

U slučajevima upale pluća, s obzirom na ponavljanje simptoma za različite uzročnike, potrebna su dodatna dijagnostička sredstva kao što su serološka ispitivanja za dijagnozu akutne infekcije.

Imunološki odgovor, nakon infekcije Mycoplasma pneumoniae, povezan je s vrstom infekcije: protutijela IgM klase češće su prisutna u slučajevima primarne infekcije, o čemu svjedoči njihovo otkrivanje kod mlađih pacijenata. Kod starijih bolesnika s većom vjerojatnošću ponovne infekcije, IgM je nizak ili neotkriven; s druge strane, IgA je pokazatelj veće osjetljivosti u trenutnoj infekciji, ponovnoj infekciji ili nedavnoj infekciji.

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

razmaku od oko 2 tjedna, omogućuje potvrdu prisutnosti infekcije u tijeku.

Antigen koji se koristi u ispitivanju za serološko određivanje specifičnog IgA proizlazi iz membranskog ekstrakta M. pneumoniae koji sadrži značajne količine citoadhezina P1 koji predstavlja imunodominantni antigen i odgovara transmembranskom proteinu, uglavnom odgovornom za citoaderenciju M. pneumoniae na epitel respiratornog sustava.

3. NAČELO METODE

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

Antigen, koji se sastoji od inaktiviranog ekstrakta Mycoplasma pneumoniae, veže se za čvrstu fazu. Inkubacijom ljudskog seruma koji se ispituje, specifične IgA se vežu za protutijelo.

Nakon pranja kako bi se uklonili proteini koji nisu reagirali, inkubacija se provodi s konjugatom koji se sastoji od ljudskih protu-IgA monoklonskih protutijela konjugiranih peroksidazom iz hrena.

Nevezani konjugat se uklanja i peroksidazom se dodaje supstrat.

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

Jednokratni uređaji sadrže sve reagense za izvođenje testa kada se primjenjuju na Instrumente Chorus.

4. MJERE OPREZA

SAMO ZA IN VITRO DIJAGNOSTIČKU UPORABU.

Ovaj komplet sadrži materijale ljudskog podrijetla koji su testirani i utvrđeni negativni za HBsAg i anti-HIV-1, anti-HIV-2 i anti-HCV protutijela. Budući da nijedan dijagnostički test ne može ponuditi potpuno jamstvo odsutnosti infektivnih tvari, svi materijali ljudskog podrijetla moraju se smatrati potencijalno zaraženim. Sa svim reagensima mora se postupati u skladu sa sigurnosnim standardima koji se obično usvajaju u laboratoriju.

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

Upozorenja o osobnoj sigurnosti

1. Ne pipetirati ustima.
2. Prilikom rukovanja uzorcima i tijekom testiranja koristite jednokratne rukavice i zaštitu za oči.
3. Temeljito operite ruke nakon završetka testiranja.
4. Što se tiče sigurnosnih značajki reagensa sadržanih u kompletu, pogledajte sigurnosno-tehničke listove (dostupne na internetskoj stranici tvrtke DIESSE: www.diesse.it).
5. Neutralizirane kiseline i drugi tekući otpad moraju se dezinficirati dodavanjem natrijevog hipoklorita u dovoljnoj količini kako bi se dobila konačna koncentracija od najmanje 1 %. Izloženost natrijevom hipokloritu na 1 %

tijekom 30 minuta trebala bi biti dovoljna kako bi se osigurala učinkovita dezinfekcija.

6. Svako izlijevanje potencijalno zaraženog materijala mora se odmah ukloniti upijajućim papirom, a zagađeno područje mora se dekontaminirati, na primjer s 1 % natrijevog hipoklorita, prije nastavka rada. Ako je prisutna kiselina, natrijev hipoklorit se ne smije koristiti prije nego što se područje osuši.

Svi materijali koji se upotrebljavaju za dekontaminaciju svih slučajnih izlijevanja, uključujući rukavice, moraju se odbaciti kao potencijalno zaraženi otpad. Nemojte stavljati u autoklavu materijale koji sadrže natrijev hipoklorit.

Analitička upozorenja

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

1. **Odbacite uređaje čiji je supstrat (jažica 4) plave boje.**
2. Prilikom dodavanja uzorka u jažicu provjerite da je besprijekorno raspoređen na dnu.
3. Provjerite stvarnu prisutnost reagensa u uređaju i cjelovitost samog uređaja, nemojte koristiti uređaje kojima nedostaje neki reagens prilikom vizualnog pregleda.
4. Uređaji se moraju koristiti zajedno s instrumentom Chorus, strogo slijedeći Upute za uporabu i Priručnik instrumenta.

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

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

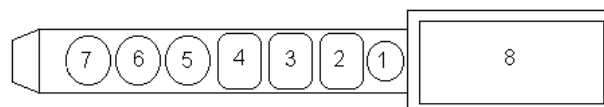
12. Provjerite ima li instrument vezu s pufferom za ispiranje (Ref. 83606)

5. SASTAV KOMPLETA I PRIPREMA REAGENSA

Komplet je dovoljan za 36 određivanja

DD UREĐAJI 6 paketa svaki od 6 uređaja

Opis:



Položaj 8: Prostor dostupan za oznaku crtičnog koda

Položaj 7: Prazan

Položaj 6: JAŽICA MIKROPLOČICE

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

Položaj 5: JAŽICA

Nije senzibilizirano.

Položaj 4: TMB SUPSTRAT

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

Položaj 3: RAZRJEDIVAČ ZA UZORKE

Sadržaj: Proteinska otopina, koja sadrži fenol 0,05%, Bronidox 0,02% i pokazatelj za otkrivanje prisutnosti seruma.

Položaj 2: KONJUGAT

Sadržaj: humana monoklonska protutijela anti-IgA (maksimalna koncentracija 2 µg/ml) označena peroksidazom, u otopini fosfatnog pufera koja sadrži 0,05 % fenola i 0,02 % Bronidoxa.

Položaj 1: PRAZNA JAŽICA

Gdje korisnik mora razdijeliti neiskorišteni serum.

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,175 mL

Sadržaj: Razrijeđeni ljudski serum, u poznatoj koncentraciji protutijela na Proclin i Gentamicin. Tekućina, spremna za uporabu.

CONTROL + POZITIVNA KONTROLA 1 x 0,425 mL

Sadržaj: Razrijeđeni ljudski serum, u poznatoj koncentraciji protutijela na Proclin i Gentamicin. Tekućina, spremna za uporabu.

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

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

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

OSTALI ZATRAŽENI MATERIJAL, ALI NIJE DOSTAVLJEN

- WASHING BUFFER / PUFER ZA ISPIRANJE **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 / OTOPINA ZA ČIŠĆENJE **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION / OTOPINA ZA DEZINFEKCIJU **REF** 83604 - 83608

- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT /
NEGATIVNA KONTROLA RAZRJEĐIVAČ UZORKA REF
83607
- Instrument CHORUS/CHORUS TRIO
- Destilirana ili deionizirana voda
- Normalna laboratorijska staklena oprema: cilindri,
epruvete itd.
- Mikro pipete u stanju točno preuzeti volumene od 50-200
μl.
- Jednokratne rukavice
- 5% otopina natrijevog hipoklorita
- Spremnici za prikupljanje potencijalno zaraženih materijala

6. NAČIN ČUVANJA I STABILNOST REAGENSA

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

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

Reagensi imaju ograničenu stabilnost nakon otvaranja i/ili pripreme:

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

7. VRSTA UZORAKA I ČUVANJE

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

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

Svježi serum se može čuvati 4 dana na 2/8 °C; za dulja razdoblja čuvanja zamrznuti na temperaturi ≤ -20 °C ne dulje od 80 mjeseci.

Uzorak može proći do najviše 3 odmrzavanja. Izbjegavajte uporabu zamrzivača koji se sami odmrzavaju za čuvanje uzoraka. Nakon odmrzavanja pažljivo protresite prije doziranja. Na kvalitetu uzorka može ozbiljno utjecati mikroba kontaminacija koja može dovesti do netočnih rezultata.

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

8. POSTUPAK

1. Otvorite omotnicu (strana na kojoj se nalazi zatvaranje na pritisak), uzmite potreban broj uređaja za obavljanje pregleda i pohranite ostale te zatvorite vrećicu nakon što ste ispustili zrak.

2. Vizualno provjerite stanje uređaja prema smjernicama iz poglavlja 4 „Analitička upozorenja“.
3. Raspodijelite u jažicu br. 1 svakog uređaja 50 μl nerazrijeđenog seruma koji će se analizirati; pri svakoj promjeni serije koristite uređaj za kalibrator.
4. Unesite uređaje u instrument Chorus. Izvršite kalibraciju (ako je potrebno) i ispitivanje kako je navedeno u Priručniku za uporabu instrumenta.

9. VALIDACIJA TESTA

Koristite kontrolni serum kako biste provjerili ispravnost dobivenog rezultata, obradivši ga kako je navedeno u priručniku za uporabu instrumenta. Ako instrument pokazuje da kontrolni serum ima vrijednost izvan granice prihvatljivosti, potrebno je ponovno provesti kalibraciju. Gore navedeni rezultati automatski će se ispraviti.

Ako je rezultat kontrolnog seruma i dalje izvan raspona prihvatljivosti, obratite se znanstvenoj podršci.

Tel: 0039 0577 319554

E-pošta: scientificsupport@diesse.it

10. TUMAČENJE TESTA

Instrument Chorus pruža polukvantitativni rezultat u proizvoljno odabranim jedinicama (AU/ml).

Test na serumu koji se ispituje može se protumačiti na sljedeći način:

POZITIVAN kada je rezultat > 18 AU/ml

NEGATIVAN kada je rezultat < 12 AU/ml

SUMNJIV: kada je rezultat između 12 i 18 AU/ml

U slučaju sumnjivog rezultata ponovite test. Ako rezultat ostane sumnjiv, ponovite vađenje nakon 1-2 tjedna.

11. OGRANIČENJA TESTA

Rezultate uvijek treba tumačiti zajedno s drugim podacima iz kliničke procjene i iz drugih dijagnostičkih ispitivanja.

Za bolju procjenu profila protutijela uzorka bilo bi poželjno procijeniti i koncentraciju u IgM-u i IgG-u

Moguće je da uzorci uzeti u ranoj fazi infekcije možda još nisu razvili protutijela u dovoljnim količinama za otkrivanje; u slučaju sumnjivog ili negativnog rezultata preporučljivo je ponoviti vađenje nakon 2-3 tjedna i provesti novu analizu ako se kliničke sumnje nastave.

Prije uporabe lipemičnih ili mutnih uzoraka preporučuje se centrifugiranje ili filtriranje.

Tumačenje rezultata na temelju kombinacije testa IgG, IgM i IgA protutijela:

Razina protutijela M. pneumoniae			
IgG	IgM	IgA	Tumačenje
negativan	negativan	negativan	nema naznaka infekcije

negativan ili pozitivan	pozitivan	negativan ili pozitivan	naznaka infekcije u tijeku
pozitivan	negativan	negativan	naznaka prijašnje infekcije
negativan ili pozitivan	negativan	pozitivan	naznaka infekcije u tijeku

12. RASPON KALIBRACIJE

Raspon kalibracije 0-100,0 AU/ml.

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

13. UNAKRIŽNO-REAKTIVNA

Ispitana su 2 uzorka (1 cut-off i 1 negativan) kojima su dodani sljedeći disruptori:

Bilirubin (15 mg/dl – 60mg/dl)

Trigliceridi (7,5 mg/ml – 30 mg/ml)

Hemoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

RF (30 IU/ml – 150 IU/ml)

Prisutnost gore navedenih ometajućih tvari u ispitnom serumu ne mijenja rezultat ispitivanja.

14. KOMPARATIVNE STUDIJE

U jednom istraživanju analizirana su 102 uzorka s kompletom Diesse i s još jednim drugim komercijalnim kompletom. 17.

Rezultati ispitivanja sažeti su u nastavku:

		Referenca		
		+	-	Ukupno
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Ukupno	20	82	102

Dijagnostička osjetljivost: 100,0 % CI_{95%}: 83,9 – 100,0

Dijagnostička specifičnost: 90,2 % CI_{95%}: 81,9 – 95,0

Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV): = 71,4 CI₉₅ %: 62,7 – 80,2

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

15. PRECIZNOST I PONOVLJIVOST

PRECIZNOST UNUTAR SESIJE

	Replicira no	Prosječni o AU/ml	D.S.	CV%
Uzor. 1	5	10.0	0.00	0.0

Uzor. 2	5	20.5	2.47	12.0
Uzor. 3	4	69.4	3.46	5.0
Uzor. 4	4	35.7	4.81	13.5

PRECIZNOST IZMEĐU SESIJA

	Prosječno AU/ml			Prosjek	D.S.	CV%
	1. dan	2. dan	3. dan			
Uzor. 1	20.3	20.5	24.1	21.6	2.14	9.9
Uzor. 2	48.9	43.9	44.7	45.8	2.69	5.9
Uzor. 3	11.9	10.3	10.0	10.7	1.02	9.5
Uzor. 4	10.0	10.0	10.0	10.0	0.00	0.0
Uzor. 5	55.0	55.4	57.8	56.1	1.51	2.7
Uzor. 6	18.2	16.4	17.5	17.4	0.91	5.2

16. BIBLIOGRAFIJA

- G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
- S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol.Rev.83:417-432,2003
- J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40:165-171
- E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. IZVJEŠTAVANJE O NEZGODI

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

18. SAŽETAK O SIGURNOSTI I UČINKOVITOSTI

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



INSTRUKCJA UŻYCIA

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Wyłącznie do użytku w diagnostyce in vitro

1. ZAMIERZONE ZASTOSOWANIE

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) to zestaw immunologiczny do półilościowego automatycznego oznaczania przeciwciał klasy IgA przeciwko Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym wywołującym pozaszpitalne zapalenie płuc. IgA jest markerem o najwyższej czułości w przypadku trwającej infekcji, ponownej infekcji lub niedawnej infekcji; dlatego zestaw jest używany jako pomoc w diagnozowaniu infekcji zapalenia płuc.

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

2. WPROWADZENIE

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

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

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

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

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

Antygen stosowany w teście do serologicznego oznaczania swoistych IgA, pochodzi z ekstraktu błonowego M. pneumoniae zawierającego znaczne ilości cytoadhezyny P1, która jest antygenem immunodominującym i odpowiada białku transmembranowemu, głównie odpowiedzialnemu za cytoadherencję M. pneumoniae do nabłonka oddechowego gospodarza.

3. ZASADA METODY

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

Antygen, składający się z ekstraktu inaktywowanej Mycoplasma pneumoniae, wiąże się z fazą stałą. Poprzez inkubację badanej ludzkiej surowicy, swoiste IgA wiążą się z antygenem.

Po płukaniu w celu usunięcia nieprzereagowanych białek przeprowadza się inkubację z koniugatem składającym się ze sprzężonych z peroksydazą chrzanową ludzkich przeciwciał antyimmunoglobulinowych.

Niezwiązany koniugat jest usuwany i dodawany jest substrat do peroksydazy.

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

Wyroby jednorazowe zawierają wszystkie odczynniki do badań w aparatach Chorus/Chorus TRIO.

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

TYLKO DO DIAGNOSTYKI IN VITRO.

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

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

Ostrzeżenia dotyczące bezpieczeństwa osobistego

1. Nie należy pipetować ustami.
2. Podczas pracy z próbkami i w trakcie badania należy używać jednorazowych rękawic i ochrony oczu.

3. Po zakończeniu badania należy dokładnie umyć ręce.
4. W celu zapoznania się z charakterystyką bezpieczeństwa odczynników zawartych w zestawie należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki (dostępna na stronie DIESSE: www.diesse.it).
5. Zneutralizowane kwasy i inne odpady płynne należy zdezynfekować przez dodanie podchlorynu sodu w ilości wystarczającej do uzyskania końcowego stężenia co najmniej 1%. Ekspozycja na 1% podchloryn sodu przez 30 minut powinna być wystarczająca do zapewnienia skutecznej dezynfekcji.
6. Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją pracy odkazić, np. 1% podchlorynem sodu. W przypadku obecności kwasu, podchloryn sodu nie może być stosowany do czasu osuszenia obszaru.

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

Ostrzeżenia analityczne

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

1. **Wyrzucić wyroby z substratem (studzienka 4) zabarwionym na niebiesko.**
2. Podczas dodawania próbki do studzienki należy sprawdzić, czy jest ona idealnie rozprowadzona na dnie.
3. Sprawdzić rzeczywistą obecność odczynników w wyrobie oraz stan samego wyrobu, nie używać wyrobów, które przy oglądzinach wykazują brak jakiegось odczynnika.
4. Wyroby muszą być używane w połączeniu z aparatem Chorus, ściśle przestrzegając instrukcji użycia oraz podręcznika aparatu.

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

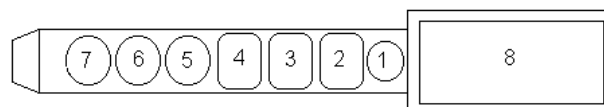
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento>: 39/

5. Sprawdzić, czy aparat Chorus jest ustawiony prawidłowo (patrz Instrukcja obsługi Chorus).
6. Nie należy zmieniać kodu kreskowego na uchwycie urządzenia, aby umożliwić jego prawidłowy odczyt przez urządzenie.
7. Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek.
8. Wadliwe kody kreskowe mogą być ręcznie wprowadzone do aparatu.
9. Podczas przechowywania i użytkowania nie należy narażać wyrobów na działanie silnego światła lub oparów podchlorynu.

10. Nie należy używać próbek hemolizowanych, lipemicznych, żółtaczkowych o wyższym stężeniu interferentów niż testowane (zgodnie ze wskazówkami w rozdziale „Swoistość analityczna”).
11. Nie należy używać wyrobu po upływie terminu ważności.
12. **Sprawdzić, czy aparat ma połączenie z buforem do płukania (Odn. 83606)**

5. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW Zestaw wystarcza na 36 oznaczeń

DD WYROBY 6 opakowań po 6 wyrobów w każdym
Opis:



Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: Puste

Pozycja 6: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ

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

Pozycja 5: STUDZIENKA

Nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

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

Pozycja 3: ROZCIENICZALNIK DO PRÓBEK

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

Pozycja 2: SKONIUGOWANY

Zawartość: znakowane peroksydazą monoklonalne przeciwciała przeciwko ludzkim IgA (maksymalne stężenie 2 µg/ml) w roztworze buforowanym fosforanem zawierającym 0.05% fenol i 0,02% Bronidox.

Pozycja 1: PUSTA STUDZIENKA

Gdzie użytkownik musi dozować nierozcieńczoną surowicę.

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,175 ml

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

CONTROL + KONTROLA DODATNIA 1 x 0,425 ml

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

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

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

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

INNE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE MATERIAŁY:

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

6. PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW

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

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

Odczynniki mają ograniczoną stabilność po otwarciu i/lub przygotowaniu:

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

7. RODZAJ PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

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

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

Świeżą surowicę można przechowywać przez 4 dni w temperaturze 2/8°C; w przypadku dłuższego przechowywania należy ją zamrozić w temperaturze ≤ -20°C na okres nieprzekraczający 80 miesięcy.

Próbka może być poddana maksymalnie 3 rozmrożeniom. Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek. Po rozmrożeniu, przed dozowaniem dokładnie wstrząsnąć. Na jakość próbki może mieć poważny wpływ zanieczyszczenie mikrobiologiczne, które może prowadzić do błędnych wyników.

Nie można stosować próbek silnie lipemicznych, miazdżycowych lub zanieczyszczonych.

8. PROCEDURA

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

9. WALIDACJA BADANIA

Za pomocą surowicy kontrolnej sprawdzić poprawność uzyskanego wyniku, przetwarzając go zgodnie z instrukcją obsługi aparatu. Jeśli urządzenie wskaże, że surowica kontrolna ma wartość poza dopuszczalną granicą, należy ponownie przeprowadzić kalibrację. Poprzednie wyniki zostaną skorygowane automatycznie.

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

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

10. INTERPRETACJA BADANIA

Aparat Chorus dostarcza ilościowy wynik w jednostkach arbitralnych (AU/ml).

Badanie na surowicy można zinterpretować w następujący sposób:

DODATNI: gdy wynik jest > 18 IU/ml
UJEMNY: gdy wynik jest < 12 IU/ml
WĄTPLIWY: gdy wynik jest pomiędzy 12 a 18 AU/ml

W przypadku wątpliwego wyniku badanie należy powtórzyć. Jeśli wynik pozostaje wątpliwy, powtórzyć pobranie próbki po 1-2 tygodniach.

11. OGRANICZENIA BADANIA

Wyniki muszą być zawsze interpretowane łącznie z innymi danymi z oceny klinicznej i innych badań diagnostycznych.

Dla lepszej oceny profilu przeciwciał w próbce, wskazane byłoby również oszacowanie stężenia IgM i IgG.

Możliwe jest, że w próbkach pobranych we wczesnym stadium zakażenia nie wytworzyły się jeszcze przeciwciała w ilości wystarczającej do wykrycia; w przypadku wątpliwości lub wyników ujemnych zaleca się powtórzenie próbki 2-3 tygodnie później i wykonanie nowego badania, jeśli utrzymują się podejrzenia kliniczne.

Przed użyciem próbek lipemicznych lub mętnych zaleca się odwirowanie lub filtrację.

Interpretacja wyników na podstawie kombinacji badania przeciwciał IgG, IgM i IgA:

Poziom przeciwciał M. pneumoniae			
IgG	IgM	IgA	Interpretacja
ujemny	ujemny	ujemny	brak oznak zakażenia
ujemny lub dodatni	dodatni	ujemny lub dodatni	wskazanie bieżącego zakażenia
dodatni	ujemny	ujemny	wskazanie wcześniejszego zakażenia
ujemny lub dodatni	ujemny	dodatni	wskazanie bieżącego zakażenia

12. ZAKRES KALIBRACJI

Zakres kalibracji 0-100,0 AU/ml.

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

13. REAKCJA KRZYŻOWA

Badano dwie próbki (1 cut-off i 1 ujemna), do których dodano następujące interferenty:

Bilirubina (15 mg/dl - 60mg/dl)

Triglicerydy (7,5 mg/ml - 30 mg/ml)

Hemoglobina (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

RF (30 IU/ml - 150 IU/ml)

Obecność powyższych substancji zakłócających w badanej surowicy nie zmienia wyniku badania.

14. BADANIA PORÓWNAWCZE

W jednym badaniu 102 próbki zostały przeanalizowane zarówno przy użyciu zestawu Diesse, jak i innych zestawów komercyjnych. 17.

Wyniki eksperymentu zostały przedstawione poniżej:

		Oдноśnik		
		+	-	Razem
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Razem	20	82	102

Czułość diagnostyczna: 100,0% CI_{95%}: 83.9 – 100.0

Swoistość diagnostyczna: 90,2% CI_{95%}: 81.9 – 95.0

Dodatnia wartość predykcji (PPV): = 71,4 CI_{95%}: 62.7 – 80.2

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

15. PRECYZJA I POWTARZALNOŚĆ

PRECYZJA W RAMACH SESJI

	Liczba powtórzeń	Średnia AU/ml	D.S.	CV%
Prób. 1	5	10.0	0.00	0.0
Prób. 2	5	20.5	2.47	12.0
Prób. 3	4	69.4	3.46	5.0
Prób. 4	4	35.7	4.81	13.5

PRECYZJA MIĘDZY SESJAMI

	Średnia AU/ml			Średnia	D.S.	CV%
	Dzień 1	Dzień 2	Dzień 3			
Prób. 1	20.3	20.5	24.1	21.6	2.14	9.9
Prób. 2	48.9	43.9	44.7	45.8	2.69	5.9
Prób. 3	11.9	10.3	10.0	10.7	1.02	9.5
Prób. 4	10.0	10.0	10.0	10.0	0.00	0.0
Prób. 5	55.0	55.4	57.8	56.1	1.51	2.7
Prób. 6	18.2	16.4	17.5	17.4	0.91	5.2

16. BIBLIOGRAFIA

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

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

17. ZGŁOSZENIE ZDARZENIA

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

18. PODSUMOWANIE BEZPIECZEŃSTWA I WYDAJNOŚCI

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



ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Само за диагностична употреба in vitro

1. ПРЕДНАЗНАЧЕНО ИЗПОЛЗВАНЕ

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgA (REF 81033) е имунологичен комплект за полуколичествено автоматизирано определяне на IgA антитела срещу Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae е най-честият етиологичен агент, причиняващ извънболнична пневмония. IgA е маркерът с най-висока чувствителност в случай на продължаваща инфекция, повторна или скорошна инфекция; поради това комплектът се използва като помощно средство при диагностицирането на инфекция с пневмония.

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

2. ВЪВЕДЕНИЕ

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

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

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

Имунният отговор след инфекция с Mycoplasma pneumoniae изглежда е свързан с вида на самата инфекция: антитела от клас IgM се срещат по-често в случаите на първична инфекция, за което свидетелства появата им при по-млади пациенти. При по-възрастните пациенти, при които вероятността от повторна инфекция е по-голяма, IgM е нисък или неоткриваем; за разлика от него

IgA е маркерът с най-висока чувствителност при текущи инфекции, повторни инфекции или скорошни инфекции.

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

Антигенът, използван в теста за серологично определяне на специфичен IgA, се получава от мембранен екстракт на M. pneumoniae, съдържащ значителни количества цитоадезин P1, който е имунодоминантният антиген и съответства на трансмембранен протеин, отговорен главно за цитоадхеренцията на M. pneumoniae към респираторния епител на гостоприемника.

3. ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Тестът се основава на метода на индиректната ELISA (ензимно свързан имуносорбентен анализ).

Антигенът, състоящ се от екстракт от инактивирана Mycoplasma pneumoniae, е свързан с твърдата фаза. При инкубация на човешкия серум за изследване специфичният IgA се свързва с антигена.

След промиване за отстраняване на нереагиралите протеини се извършва инкубация с конюгат, състоящ се от моноклонални анти-човешки IgA антитела, конюгирани с хрян пероксидаза.

Несвързаният конюгат се отстранява и се добавя субстрат за пероксидазата.

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

Устройствата за еднократна употреба съдържат всички реактиви за извършване на теста, когато се прилагат към инструментите Chorus.

4. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

САМО ЗА ДИАГНОСТИЧНА УПОТРЕБА IN VITRO.

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

Изхвърляне на остатъци: използваните серумни проби, калибратори и ленти трябва да се третират като

инфектирани остатъци, след което да се изхвърлят в съответствие с разпоредбите.

Предупреждения за лична безопасност

1. Не пипетирайте с уста.
2. Използвайте ръкавици за еднократна употреба и защита на очите при работа с пробите и по време на теста.
3. След приключване на теста измийте добре ръцете си.
4. За характеристиките за безопасност на реагентите, включени в комплекта, моля, направете справка в информационния лист за безопасност (достъпен на уебсайта на DIESSE: www.diesse.it).
5. Неутрализираните киселини и други течни отпадъци трябва да се дезинфекцират чрез добавяне на натриев хипохлорит в достатъчен обем, за да се постигне крайна концентрация от поне 1 %. Излагането на 1% натриев хипохлорит в продължение на 30 минути трябва да е достатъчно, за да се осигури ефективна дезинфекция.
6. Всеки разлив на потенциално инфектирани материали трябва да се отстрани незабавно с абсорбираща хартия, а замърсената зона трябва да се дезинфекцира, напр. с 1% натриев хипохлорит, преди да се продължи работата. Ако има киселина, натриевият хипохлорит не трябва да се използва, докато зоната не бъде изсушена.

Всички материали, използвани за обеззаразяване на случайни разливи, включително ръкавици, трябва да се изхвърлят като потенциално инфекциозен отпадък. Не използвайте автоклав за материали, съдържащи натриев хипохлорит.

Аналитични предупреждения

Преди употреба поставете изделията, които ще използвате, на стайна температура (18 – 30°C) за поне 30 минути и ги използвайте в рамките на 60 минути.

1. **Изхвърлете устройствата със субстрат (ямка 4), оцветен в синьо.**
2. Когато добавяте пробата в ямката, проверете дали тя е напълно разпределена на дъното.
3. Проверявайте действителното наличие на реагентите в устройството и целостта на самото устройство, не използвайте устройства, които показват липса на някои реагенти при визуална проверка.
4. Устройствата трябва да се използват заедно с инструмента Chorus, като се спазват стриктно инструкциите за употреба и ръководството на инструмента.

Използването на комплекта е възможно само с актуализирана версия на софтуера. Уверете се, че софтуерът, инсталиран на инструмента, е същият или има версия (Rel.), по-висока от тази, посочена в таблицата, публикувана на уебсайта на Diesse

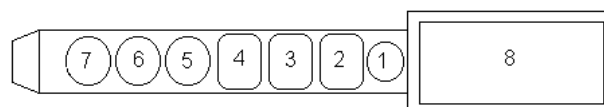
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

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

5. СЪСТАВ НА КОМПЛЕКТА И ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТ

Комплектът е достатъчен за 36 определяния

DD УСТРОЙСТВА 6 опаковки с по 6 устройства
Описание:



Позиция 8: Свободно място за етикет с баркод

Позиция 7: Празен

Позиция 6: ЯМКА ЗА МИКРОПЛАКА

Сенсибилизиран с антиген на *Mycoplasma pneumoniae*: максимална концентрация 2,51 µg/ml

Позиция 5: ЯМКА

Не е сенсибилизиран.

Позиция 4: ТМВ СУБСТРАТ

Съдържание: Тетраметилбензидин 0,26 mg/ml и H₂O₂ 0,01%, стабилизирани в цитратен буфер 0,05 mol/L (pH 3,8)

Позиция 3: РАЗРЕДИТЕЛ ЗА ПРОБИ

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

Позиция 2: КОНЮГАТ

Съдържание: човешки моноклонални IgA антитела (максимална концентрация 2 µg/ml), маркирани с пероксидаза, във фосфатен буферен разтвор, съдържащ фенол 0,05% и Бронидокс 0,02%.

Позиция 1: ПРАЗЕН РЕЗЕРВОАР

Където потребителят трябва да дозира неразредения серум.

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

КАЛИБРАТОР КАЛИБРАТОР 1 x 0,175 ml

Съдържание: Разреден човешки серум, известна концентрация на антитела с Proclin и Gentamicin. Течен, готов за употреба.

КОНТРОЛА + ПОЛОЖИТЕЛНА КОНТРОЛА 1 x 0.425 ml

Съдържание: Разреден човешки серум, известна концентрация на антитела с Proclin и Gentamicin. Течен, готов за употреба.

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

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

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

ДРУГИ НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДВИДЕНИ МАТЕРИАЛИ

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

6. СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАКТИВИТЕ

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

Датата на изтичане на срока на годност е отпечатана върху всеки компонент и върху етикета на външната опаковка.

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

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

7. ТИП ПРОБИ И СЪХРАНЕНИЕ

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

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

Пресният серум може да се съхранява 4 дни при 2/8°C; за по-дълъг период на съхранение замразете при температури ≤ -20°C за период не по-дълъг от 80 месеца.

Пробата може да бъде подложена на максимум 3 размразявания. Избягвайте използването на саморазмразяващи се фризери за съхранение на проби. След размразяването разклатете внимателно преди дозиране. Качеството на пробата може да бъде сериозно засегнато от микробно замърсяване, което може да доведе до грешни резултати.

Не могат да се използват силно липемични, иктерни или замърсени проби.

8. ПРОЦЕДУРА

1. Отворете плика (страната, съдържаща уплътнението под налягане), извадете необходимия брой устройства за извършване на изследванията и запазете останалите, като затворите плика отново, след като изпуснете въздуха.
2. Визуално проверете състоянието на устройството съгласно инструкциите в глава 4 "Аналитични предупреждения".
3. Дозирайте 50 µl неразреден серум, който ще се анализира, в ямка № 1 на всяко устройство; използвайте калибратор при всяка смяна на партидата.
4. Представете устройствата на инструмента Chorus. Извършете калибриране (ако е необходимо) и тест, както е описано в ръководството за употреба на инструмента.

9. ВАЛИДИРАНЕ НА ТЕСТА

Използвайте контролен серум, за да проверите правилността на получения резултат, като го обработите, както е посочено в ръководството за потребителя на уреда.

Ако уредът покаже, че контролен серум има стойност извън допустимата граница, калибрирането трябва да се извърши отново. Предишните резултати ще бъдат коригирани автоматично.

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

Тел: 0039 0577 319554

имейл: scientificsupport@diesse.it

10. ТЪЛКУВАНЕ НА ТЕСТА

Инструментът Chorus предоставя полуколичествен резултат в произволни единици (AU/ml).

Тестът на тестовия серум може да се интерпретира по следния начин:

ПОЛОЖИТЕЛЕН, когато резултатът е > 18 AU/ml

НЕГАТИВЕН, когато резултатът е < 12 AU/ml

СЪМНИТЕЛЕН: когато резултатът е между 12 и 18 AU/ml

В случай на съмнителен резултат повторете теста. Ако резултатът остава съмнителен, повторете пробата след 1-2 седмици.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

Резултатите винаги трябва да се тълкуват заедно с другите данни от клиничната оценка и другите диагностични изследвания.

За по-добра оценка на профила на антителата в пробата е препоръчително да се оцени и концентрацията на IgM и IgG. Възможно е пробите, взети в ранен стадий на инфекцията, все още да не са развили антитела в достатъчно количество, за да бъдат открити; в случай на съмнение или отрицателни резултати е препоръчително да се повтори пробата 2-3 седмици по-късно и да се направи нов тест, ако клиничните подозрения продължават.

Препоръчва се центрофугиране или филтриране, преди да се използват липаемични или мътни проби.

Тълкуване на резултатите, основани на комбинацията от анализ на антитела IgG, IgM и IgA:

Ниво на антитела срещу <i>M. pneumoniae</i>			
IgG	IgM	IgA	Интерпретация
отрицателен	отрицателен	отрицателен	без признаци на инфекция
отрицателен или положителен	положителен	отрицателен или положителен	индикация за текуща инфекция
положителен	отрицателен	отрицателен	индикация за предишна инфекция
отрицателен или	отрицателен	положителен	индикация за текуща

положителен			инфекция
-------------	--	--	----------

12. ОБХВАТ НА КАЛИБРИРАНЕ

Обхват на калибриране 0-100,0 AU/ml.

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

13. КРЪСТОСАНИ РЕАКЦИИ

Бяха изследвани 2 проби (1 отрязана и 1 отрицателна), към които бяха добавени следните интерференти:

Билирубин (15 mg/dl - 60mg/dl)

Триглицериди (7,5 mg/ml - 30 mg/ml)

Хемоглобин (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

RF (30 IU/ml - 150 IU/ml)

Наличието на горепосочените интерфериращи вещества в тестовия серум не променя резултата от теста.

14. СРАВНИТЕЛНИ ПРОУЧВАНИЯ

При едно изпитване 102 проби са анализирани както с комплекта на Diesse, така и с други търговски комплекти. 17.

Резултатите от експеримента са описани по-долу:

		Справка		
		+	-	Общо
Diesse	+	20	8	28
	-	0	74	74
	Общо	20	82	102

Диагностична чувствителност: 100,0 % CI_{95%}: 83.9 - 100.0

Диагностична специфичност: 90.2 % CI_{95%}: 81.9 - 95.0

Положителна прогнозна стойност (PPV): = 71,4 CI_{95%}: 62.7 – 80.2

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

15. ПРЕЦИЗНОСТ И ПОВТОРЯЕМОСТ

ПРЕЦИЗНОСТ В РАМКИТЕ НА СЕСИЯТА

	Брой повторения	Среден AU/ml	Д.С.	CV%
Проба. 1	5	10.0	0.00	0.0
Проба. 2	5	20.5	2.47	12.0
Проба. 3	4	69.4	3.46	5.0
Проба. 4	4	35.7	4.81	13.5

ПРЕЦИЗНОСТ МЕЖДУ СЕСИИТЕ

	Среден AU/ml			Среден	Д.С.	CV%
	Ден 1	Ден 2	Ден 3			
Проба. 1	20.3	20.5	24.1	21.6	2.14	9.9
Проба. 2	48.9	43.9	44.7	45.8	2.69	5.9
Проба. 3	11.9	10.3	10.0	10.7	1.02	9.5
Проба. 4	10.0	10.0	10.0	10.0	0.00	0.0
Проба. 5	55.0	55.4	57.8	56.1	1.51	2.7
Проба. 6	18.2	16.4	17.5	17.4	0.91	5.2

16. БИБЛИОГРАФИЯ

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40:165-171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. ДОКЛАДВАНЕ НА ИНЦИДЕНТИ

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

18. ОБОБЩЕНИЕ ОТНОСНО БЕЗОПАСНОСТТА И ЕФЕКТИВНОСТТА

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



KASUTUSJUHEND

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA

Ainult *in vitro* diagnostikaks

1. KAVANDATUD KASUTUSALA

CHORUS *Mycoplasma pneumoniae* IgA (REF 81033) on immuunanalüüsi komplekt *Mycoplasma pneumoniae* vastaste IgA tüüpi antikehade automaatseks poolkvantitatiivseks määramiseks.

Mycoplasma pneumoniae on kogukonnas tekkinud kopsupõletiku levinuim etioloogiline tegur. IgA on kõige tundlikum marker käimasoleva nakkuse, taasnakatumise või hiljutise nakkuse tuvastamiseks; seetõttu kasutatakse seda komplekti abivahendina nakkusliku kopsupõletiku diagnoosimisel.

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

2. SISSEJUHATUS

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

Mycoplasma pneumoniae ründab ja hävitab hingamisteede limaskesta ripsepiteeli rakke. Interstiitsiaalset kopsupõletikku, bronhiiti ja bronhioliiti saab tuvastada mikroskoopilise uurimisega.

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

Mycoplasma pneumoniae nakkuse järgne immuunvastus sõltub nakkuse tüübist: IgA tüüpi antikehad on sagedamad esmaste nakkuste korral, nagu näitab nende esinemine noorematel patsientidel. IgM sisaldus on väike või puudub vanematel patsientidel, kellel on suurem tõenäosus taasnakatumiseks. Teisest küljest: IgA on kõige tundlikum marker käimasoleva nakkuse, taasnakatumise või hiljutise nakkuse tuvastamiseks. Spetsiifilised IgA tüüpi antikehad tekivad nakkuse alguses ja nende sisaldus suureneb maksimumini esimese nelja nädala jooksul, vähenedes seejärel üsna kiiresti (varem kui IgG

sisaldus); tihti saab ägeda nakkuse diagnoosida ühe proovi analüüsi alusel. IgG tüüpi antikehad tekivad organismis hiljem kui IgM ja IgA tüüpi antikehad ning nende maksimaalne sisaldus saavutatakse tavaliselt 5. nädalal. Suur sisaldus ja selle märkimisväärne kasv kahe umbes kahenädalase vahega võetud proovi põhjal kinnitab käimasolevat nakkust.

Spetsiifilise IgA seroloogiliseks analüüsiks kasutatav antigeen pärineb *M. pneumoniae* membraani ekstraktist. See membraan sisaldab hulgaliselt P1 adhesiini (immunodominantse antigeeni) molekule. P1 adhesiin on transmembraanne valk, mis on peamine osaline *M. pneumoniae* kinnitumisel peremeesorganismi hingamisteede epiteelile.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Analüüs lähtub kaudse immunoensüümmeetodi ehk kaudse ELISA (*indirect enzyme linked immunosorbent assay*) põhimõttest.

Antigeen, mis koosneb inaktiveeritud *Mycoplasma pneumoniae* ekstraktist, on seotud tahke faasiga ja seda inkubeeritakse inimese seerumi prooviga, nii et spetsiifilised IgA-d seonduvad antigeeniga.

Pärast pesemist, et eemaldada reageerimata jäänud valgud, toimub inkubeerimine konjugaadiga, mis koosneb inimese IgA vastastest monoklonaalsetest peroksidaasiga konjugeeritud antikehadest.

Seejärel kõrvaldatakse reageerimata jäänud konjugaat ja lisatakse peroksidaasi substraat. Tekkiva sinise värvuse tugevus on proportsionaalne uuritavas seerumis olevate spetsiifiliste antikehade kontsentratsiooniga.

Ühekordselt kasutatavad seadmed sisaldavad kõiki reaktiive, mis on vajalikud analüüsiks Chorusi aparaadiga.

4. HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

AINULT *IN VITRO* DIAGNOSTIKAKS

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

Jäätmete kõrvaldamine: kasutatud seerumiproove, kalibreerimislahuseid ja komplekte tuleb käsitleda nakkusohtlike jääkidena ning kõrvaldada seadusega ette nähtud korra alusel.

Tervishoiu- ja ohutusteave

1. Ärge pipeteerige suuga.
2. Proovide käsitlemisel kandke ühekordselt kasutatavaid kindaid ja silmakaitsevahendeid.
3. Pärast seadmete asetamist CHORUS-i aparaati peske hoolikalt käsi.

4. Komplektis sisalduvate reaktiivide ohutusomadusi vt ohutuskaardilt (saadaval DIESSE'i veebilehel: www.diesse.it).
5. Neutraliseeritud hapetes ja muudes vedelates jäätmetes sisalduvad haigustekitajad tuleb kahjutuks teha, lisades piisava koguse naatriumhüpokloriiti, et saavutada vähemalt 1,0% lõppkontsentratsioon. Tõhusaks dekontaminatsiooniks võib olla vajalik 30-minutiline kokkupuude 1% naatriumhüpokloritiga.
6. Potentsiaalselt nakkusohutike materjalide lekked tuleb viivitamatult kõrvaldada imava paberrätikuga ja saastunud ala tuleb enne töö jätkamist pühkida pühkida 1,0% naatriumhüpokloriti vm vahendiga. Naatriumhüpokloriiti ei tohi kasutada happeliste sisaldavate lekete puhul, kui lekke piirkonda ei ole esmalt kuivaks pühitud. Lekke piirkonna puhastamiseks kasutatud vahendid, sealhulgas kindad, tuleb hävitada kui võimalikud bioloogiliselt ohtlikud jäätmed. Mitte autoklaavida materjale, mis sisaldavad naatriumhüpokloriiti.

Analüütilised ettevaatusabinõud

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

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

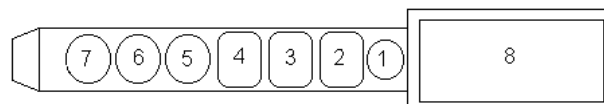
12. Veenduge, et aparaadi pesupuhvri REF 83606 paak oleks ühendatud.

5. KOMPLEKTI KOOSTIS JA REAKTIIVIDE VALMISTAMINE

Komplektiga saab antikehasid määrata 36 korda.

DD SEADMED koos pakki, millest igaüks sisaldab kuute seadet

Seadme kirjeldus:



8. positsioon: koht vöötkoodi sildile

7. positsioon: tühi

6. positsioon: MIKROPLAADI KAEVUKE

Kaetud *Mycoplasma pneumoniae* antigeeniga: maksimaalne kontsentratsioon 2,51 µg/ml

5. positsioon: MIKROPLAADI KAEVUKE (kattekihita)

4. positsioon: TMB SUBSTRAAT

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

3. positsioon: PROOVILAHJENDI

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

2. positsioon: KONJUGAAT

Koostis: inimese IgA vastased peroksidaasiga märgistatud monoklonaalsed antikehad (max kontsentratsioon 2 µg/m) fosfaatpuhvrts, mis sisaldab 0,05% fenooli ja 0,02% 5-bromo-5-nitro-1,3-dioksaani.

1. positsioon: TÜHI KAEVUKE,

kuhu kasutaja peab kandma lahjendamata seerumi

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

KALIBREERIMISLAHUS KALIBREERIMISLAHUS 1 × 0,175 ml

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

KONTROLL + POSITIIVNE KONTROLL 1 × 0,425 ml

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

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

Kalibreerimislahus ja positiivne kontroll valmistatakse, lahjendades inimese antigeenide teada kontsentratsiooniga

lahust vastavas stabiliseerivas lahustis. Suhteline täpne kontsentratsioonivahemik sõltub partiist ja määratakse müügile lubamise eelse kvaliteedikontrolli etapis, kasutades töökalibreerimislahuste sarja. Töökalibreerimislahuseid valmistatakse ja analüüsitakse, kontrollides kooskõla võrdlusseerumite paneeliga, kus on antigeenide erinevad sisaldused.

VAJALIKUD VAHENDID, MIDA POLE KAASAS

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

6. REAKTIIVIDE SÄILITAMINE JA STABIILSUS

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

Kõlblikkusaja lõpp on trükitud igale komponendile ja komplekti etiketile.

Reaktiivide stabiilsus pärast avamist on piiratud:

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

7. PROOVIDE KOGUMINE JA SÄILITAMINE

Proov koosneb veenist kogutud seerumist, mida käideldakse kõigi heade laboritavadega ette nähtud ettevaatusabinõude kohaselt.

Juhendi CLSI H18-A3 alusel peavad uuritavad seerumiproovid olema enne tsentrifuugimist hüübinud; spontaanne ja täielik hüübimine toimub temperatuuril 22–25 °C tavaliselt 30–60 minuti jooksul.

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

Värsket seerumiproovi võib säilitada ~~neli~~ päeva temperatuuril 2–8 °C või külmutada pikaajaliseks säilitamiseks (vähemalt 32 kuud) temperatuuril ≤ –20 °C ja seda võib kuni kolm korda üles sulatada. Ärge hoidke proove automaatsulatusega

sügavkülmutamises. Sulatatud proove tuleb enne kasutamist hoolikalt loksutada. Proovi kvaliteeti võib tugevalt mõjutada mikroobne saastumine, mis põhjustab tulemuste ebatäpsust. Tugevalt lipeemilisi, ikteerilisi, hemolüüsunud või saastunud proove ei saa kasutada. Plasmaga pole analüüsi võimalik teha.

8. ANALÜÜSIPROTSEDUUR

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

9. KATSETE VALIDEERIMINE

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

Tel: 00 3905 7731 9554

E-post: scientificsupport@diesse.it

10. TULEMUSTE TÕLGENDAMINE

Chorusi aparaat annab poolkvantitatiivse tulemuse vabalt valitud ühikutes milliliitri kohta (*arbitrary units per milliliter*, AU/ml). Uuritava seerumiga saadud tulemust saab tõlgendada järgmiselt:

POSITIIVNE: kui tulemus on > 18 AU/ml

NEGATIIVNE: kui tulemus on < 12 AU/ml

EBASELGE: kui tulemus on vahemikus 12–18 AU/ml

Ebaselge tulemuse korral tehke analüüs uuesti. Kui analüüsi tulemus jääb ebaselgeks, võtke 1–2 nädala pärast uus proov.

11. PIIRANGUD

Analüüsi tulemusi tuleb kasutada koos kliinilisest hindamisest pärineva ja muude diagnostiliste protseduuridega saadud teabega.

Proovi antikehaprofiili paremaks hindamiseks on soovitatav määrata ka IgM ja IgG tüüpi antikehade kontsentratsioon.

Nakkuse varajases etapis kogutud proovides ei pruugi olla tuvastamiseks piisavalt antikehi; ebaselgete või negatiivsete tulemuste korral, kui endiselt on kliinilisi kahtlusi, võtke 2–3 nädala pärast uus proov ja korrake analüüsi.

Enne analüüsi on soovitatav lipeemilised või hägused proovid tsentrifuugida või filtreerida.

IgG, IgM ja IgA tüüpi antikehade kombineeritud analüüsi tulemuste tõlgendamine:

<i>M. pneumoniae</i> antikehade sisaldus			
IgG	IgM	IgA	Tõlgendus
negatiivne	negatiivne	negatiivne	Nakatamise tunnused puuduvad
negatiivne või positiivne	positiivne	negatiivne või positiivne	Viitab käimasolevale nakkusele
positiivne	negatiivne	negatiivne	Viitab varasemale nakkusele
negatiivne või positiivne	negatiivne	positiivne	Viitab käimasolevale nakkusele

12. KALIBREERIMISVAHEMIK

Kalibreerimisvahemik: 0–100,0 AU/ml.

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

13. RISTREAKTSIOONID

Kontrolliti kahte proovi (1 *cut-off* ja 1 negatiivne), mis sisaldasid potentsiaalselt segavaid ühendeid/tegureid:

Bilirubiin (15–60 mg/dl)
Triglütseriidid (7,5–30 mg/ml)
Hemoglobiin (2,5–10 mg/ml)
RF (30–150 RÜ/ml)

Eespool loetletud segavate ühendite/tegurite esinemine uuritud seerumis ei muutnud analüüsi tulemusi.

14. MEETODITE VÕRDLU

Katse käigus analüüsiti 102 proovi nii Diesse'i komplekti kui ka teise turul kättesaadava meetodiga.

Allpool on esitatud uuringu tulemused tabelite kujul.

		Standardmeetod		
		+	–	Kokku
Diesse	+	20	8	28
	–	0	74	74
	Kokku	20	82	102

Diagnostiline tundlikkus: 100,0%; 95% CI: 83,9; 100,0

Diagnostiline spetsiifilisus: 90,2%; 95% CI: 81,9; 95,0

Positiivne ennustuväärtus (PEV) = 71,4; 95% CI: 62,7; 80,2

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

15. TÄPSUS JA KORRATAVUS

ANALÜÜSISARJA SISENE TÄPSUS

	Korduste arv	Keskmine (AU/ml)	Standardhälve	Variatsioonikordaja (%)
1. proov	5	10,0	0,00	0,0
2. proov	5	20,5	2,47	12,0
3. proov	4	69,4	3,46	5,0
4. proov	4	35,7	4,81	13,5

ANALÜÜSISARJA VÄLINE TÄPSUS

	Keskmine (AU/ml)			Keskmine	Standardhälve	Variatsioonikordaja (%)
	1. päev	2. päev	3. päev			
1. proov	20,3	20,5	24,1	21,6	2,14	9,9
2. proov	48,9	43,9	44,7	45,8	2,69	5,9
3. proov	11,9	10,3	10,0	10,7	1,02	9,5
4. proov	10,0	10,0	10,0	10,0	0,00	0,0
5. proov	55,0	55,4	57,8	56,1	1,51	2,7
6. proov	18,2	16,4	17,5	17,4	0,91	5,2

16. VIITED

1. G. B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741–747
3. S. Rotten: Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol. Rev. 83: 417–432, 2003
4. J. Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J. Clin. Microbiol. 2002 40: 165–171
5. E. Jacobs: Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol. Chem. Vol. 369, pp. 1295–1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

17. OHUJUHTUMITEST TEATAMINE

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

18. OHUTUSE JA TOIMIVUSE KOKKUVÕTE

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

	EN ES IT CS HR BG	Date of manufacture Fecha de fabricación Data di fabbricazione Datum výroby Datum proizvodnje Дата на производство	FR EL PT RO DE ET PL	Date de fabrication Ημερομηνία κατασκευής Data de fabrico Data fabricației Datum der Herstellung Valmistamise kuupäev Data produkcji
	EN ES IT CS HR BG	Use By Utilizar antes de Utilizzare entro Použiti do Upotrijebiti do Използване в рамките на	FR EL PT RO DE ET PL	Utilisation d'ici Χρήση εντός Utilizar até A se utiliza până la data de Verwendung innerhalb Kölblik kuni Data minimalnej trwałości
	EN ES IT CS HR BG	Caution, consult accompanying documents Atención, véanse las instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Pozor, nahlédněte do průvodních dokumentů Pozor, vidí upute za uporabu Внимание, вижте инструкциите за употреба	FR EL PT RO DE ET PL	Attention, voir le mode d'emploi Προσοχή, ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης Atenção, ver instruções de utilização Atenție, consultați instrucțiunile de utilizare Achtung, siehe Gebrauchsanweisung Tähelepanu! Vt kaasasolevaid dokumente Uwaga, patrz instrukcja obsługi
	EN ES IT CS HR BG	Manufacturer Fabricante Fabbicante Výrobce Proizvođač Производитель	FR EL PT RO DE ET PL	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Producător Hersteller Tootja Producent
	EN ES IT CS HR BG	Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para "n" ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů Sadržaj dovoljan za „tot.“ testova Достаточно съдържание за "n" есета	FR EL PT RO DE ET PL	Contenu suffisant pour « n » essais Επαρκές περιεχόμενο για "n" δοκιμές Conteúdo suficiente para "n" ensaios Conținut suficient pentru „n” teste Ausreichender Inhalt für „n” Tests Piisav kogus n katseks Zawiera wystarczającą ilość do „n” próbek
	EN ES IT CS HR BG	Temperature limitation Límites de temperatura Limiti di temperatura Teplotní omezení Temperaturne granice Температурни граници	FR EL PT RO DE ET PL	Limites de température Όρια θερμοκρασίας Limites de temperatura Limite de temperatură Temperaturgrenzwerte Temperatuuripiirang Wartości graniczne temperatury
	EN ES IT CS HR BG	Consult Instructions for Use Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Přečtěte si návod k použití Pogledati upute za uporabu Вижте инструкциите за употреба	FR EL PT RO DE ET PL	Voir le mode d'emploi Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης Ver instruções de utilização Consultați instrucțiunile de utilizare Siehe Gebrauchsanweisung Vt kasutusjuhendit Patrz instrukcja obsługi
	EN ES IT CS HR BG	Catalogue number Número de catálogo Numero di catalogo Katalogové číslo Kataloški broj Каталожен номер	FR EL PT RO DE ET PL	Numéro de catalogue Αριθμός καταλόγου Número de catálogo Număr catalog Katalognummer Katalooginumber Numer katalogowy
	EN ES IT CS HR	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device Productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i> Medicinski proizvod za dijagnostiku <i>in vitro</i>	FR EL PT RO DE	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> διαγνωστική ιατρική συσκευή Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i> Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät

	BG	Диагностично медицинско изделие <i>in vitro</i>	ET PL	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	EN ES IT CS HR BG	Batch code Código de lote Codice del lotto Kód šarže Šifra serije Код на партидата	FR EL PT RO DE ET PL	Code du lot Κωδικός παρτίδας Código do lote Codul lotului Chargen-Code Partii kood Kod partii
	IT EN CS DE HR BG	Marcatura CE di conformità CE marking of conformity Označení shody CE CE-Kennzeichnung CE oznaka sukladnosti Маркировка за съответствие CE	ES EL FR PT RO ET PL	Marcado de conformidad CE Σήμανση συμμόρφωσης CE Marquage de conformité CE Marcação de conformidade CE Marcajul de conformitate CE CE-vastavusmärgis Oznaczenie zgodności CE