

CHORUS

**MYCOPLASMA
PNEUMONIAE IgM**

REF 81035



DIESSE

**DIESSE Diagnostica
Senese**

**Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SI)
Italy**



0123



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgM

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. DESTINAZIONE D'USO

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) è un kit immunologico per la determinazione qualitativa automatizzata degli anticorpi IgM contro Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae è l'agente eziologico più comune che causa la polmonite acquisita in ambienti comunitari. Le IgM si riscontrano più frequentemente in caso di infezione primaria; pertanto, il kit viene utilizzato come ausilio nella diagnosi dell'infezione da polmonite.

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

2. INTRODUZIONE

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

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

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

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

Gli anticorpi specifici di classe A compaiono in maniera precoce, a inizio della malattia e raggiungono titoli elevati nelle prime 4 settimane, per poi decadere in modo repentino prima delle IgG, permettendo la diagnosi di infezione acuta anche con un singolo prelievo. Le IgG compaiono dopo le IgM ed IgA, mediamente raggiungono il picco massimo nella 5ª 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 per la determinazione sierologica delle IgM specifiche deriva da un estratto di membrana di M. pneumoniae contenente quantità significative di citoadesina P1 che è l'antigene immunodominante e corrispondente ad una proteina transmembrana, principale responsabile, nella prima fase dell'infezione, della citoaderenza 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 diluito in un diluente bloccante le IgG, le IgM specifiche si legano all'antigene.

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti IgM umane coniugate con perossidasi di rafano.

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

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

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Attenzione:

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento.
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 è normalmente 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 pulita, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

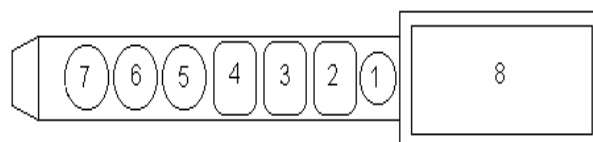
1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu .**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e la integrità del dispositivo stesso, non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento CHORUS/CHORUS TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale dello strumento.
5. Controllare che lo strumento 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

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



Descrizione:

Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: NON UTILIZZATO

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA sensibilizzato con antigeni del *Mycoplasma pneumoniae*: concentrazione massima 2.45µg/ml

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione proteica contenente anti IgG umane, fenolo 0.05%, Bronidox 0.02% e un indicatore per rivelare l'aggiunta di siero.

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti-IgM: concentrazione massima 1 µg/ml marcati con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin 0.2% e Gentamicina 0.05%, liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin 0.2% e Gentamicina 0.05 %, 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
- 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
CALBRATORE	8 settimane a 2/8°C
CONTROLLO POSITIVO	8 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

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

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

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a temperature ≤ -20°C per un periodo non superiore a 47 mesi. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Dopo scongelamento agitare con cura prima del dosaggio. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati errati.

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

Il test non è applicabile a plasma umano.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prendere il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 6 Avvertenze Analitiche punti 1 e 8.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero indiluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.

4. Introdurre i dispositivi sullo strumento CHORUS/CHORUS TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

Tel: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento fornisce il risultato in Index (OD campione/OD cut-off).

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

POSITIVO: quando il risultato è > 1.1

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.9

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.9 e 1.1

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

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

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

È 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 è consigliabile ripetere un prelievo a distanza di 2-3 settimane ed eseguire una nuova analisi.

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

12. SPECIFICITA' ANALITICA

La presenza nel campione di siero di potenziali interferenti come:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Epstein Barr virus (n=6)
- Cytomegalovirus (n=10)
- Fattore Reumatoide (n=7)
- Emolisi (n=5)

non altera il risultato del test.

13. STUDI DI COMPARAZIONE

Sono stati analizzati 73 campioni. I risultati dubbi ottenuti con entrambe i kit sono stati considerati positivi. Il kit Diesse ha dato 4 falsi positivi ed 1 falso negativo.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Tabella 1.

		Riferimento		Totale
		+	-	
	Diesse	18	4	22
	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Totale	19	54	73

Sensibilità	94.7	%	CI _{95%} : 75.4 to 99.1
Specificità	92.6	%	CI _{95%} : 82.4 to 97.1
Valore predittivo positivo (PPV):	81.8	%	CI _{95%} : 72.9 – 90.7
Valore predittivo negativo (NPV):	98,0	%	CI _{95%} : 94.8– 100.0

14. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Tabella 2. Precisione all'interno della seduta

	Numero di repliche	Media Index	DS	CV%
Lotto 505	9	2.5	0.29	11.6
Lotto 506	9	2.1	0.27	12.9
Lotto 509	8	1.9	0.23	12.1

Tabella 3. Precisione tra sedute e tra lotti

Campione	Media Index			Media	DS	CV%
	Lotto 505	Lotto 506	Lotto 509			
MYM 1	0.5	0.5	0.4	0.5	0.06	12.0
MYM 2	1.1	1.0	1.1	1.1	0.06	5.5
MYM 3	2.9	2.1	2.4	2.5	0.40	16.0

15. BIBLIOGRAFIA

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

16. SEGNALE DI INCIDENTE

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

17. 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 IgM

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED PURPOSE

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) is an immunoassay kit for the automated qualitative determination of IgM antibodies against Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae is the most common etiological agent causing pneumonia acquired in community environments. The IgM are more frequently found in case of primary 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 IgM-class antibodies are more frequently found in case of primary infections as demonstrated by their presence in younger patients. The IgM are low or not found in older patients with higher probability of reinfection. On the other hand the IgA represent the highest sensitivity marker in case of an infection in progress, a reinfection or a recent infection.

Specific IgA-class antibodies appear early during the infection and reach peak levels during the first 4 weeks, then declining quite rapidly, earlier than the IgG; diagnosis of an acute infection can often be made on the basis of a single sample test. The IgG appear after the IgM and IgA and they generally reach the peak level during the 5th week. A high titer together

with a significant increase between two samples taken approximately 2 weeks apart, confirms that an infection is in progress.

The antigen used for the serological determination of specific IgM is derived from a *M. pneumoniae* membrane extract containing significant amounts of P1 cytoadhesin which is the immunodominant antigen corresponding to a transmembrane protein which is chiefly responsible for the cytoadherence of *M. pneumoniae* to the respiratory epithelium in the host during the early phase of the infection.

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 diluted in a diluent which blocks the IgG antibodies; the specific IgM 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 IgM 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.

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 instrument.
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.

- 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.

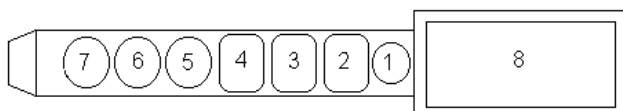
- Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
- Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
- Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent.
- The devices are for use with the CHORUS/CHORUS TRIO instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
- Check that the instrument is set up correctly (see Operating Manual).
- 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.
- Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
- Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
- Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapours during storage and use.
- 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).
- Do not use the device after the expiry date
- Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer REF 83606.**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

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



Description:

Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: NOT USED

Position 6: MICROPLATE WELL coated with Mycoplasma pneumoniae antigens: maximum concentration 2.45µg/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: DILUENT FOR THE SAMPLES

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

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-IgM monoclonal antibodies (maximum concentration 1 µg/m) labeled with peroxidase in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%.

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin 0.2% and Gentamycin 0.05%, **liquid ready for use**.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin 0.2% and Gentamycin 0.05% , **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
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening and/or preparation

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

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

The sample is composed of serum collected from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

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

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

The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at temperature $\leq -20^{\circ}\text{C}$ at least 47 months and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

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

The test cannot be applied to plasma.

8. PROCEDURE

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The instrument expresses the result in Index (OD sample/OD cut-off).

The test on the examined serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is > 1.1

NEGATIVE: when the result is < 0.9

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.9 and 1.1

If the result is doubtful/equivocal, repeat the test. If it remains doubtful/equivocal, collect a new serum sample.

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

For a definitive diagnosis, the test results should be used in conjunction with information available from the clinical evaluation and other diagnostic procedures.

Samples collected during the early phase of the infection may not have developed sufficient antibodies to be detectable; in the case of doubt, collect a new sample after 2-3 weeks and repeat the test.

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

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

The presence of potentially interfering substances such as

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Epstein Barr virus (n=6)
- Cytomegalovirus (n=10)
- Rheumatoid factor (n=7)
- Haemolysis (n=5)

does not interfere with the test result.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

73 samples were tested. Doubtful results obtained with both kits were considered positive. The Diesse kit gave 4 false positive and 1 false negative result.

The results are summarized in the following table:

Table 1.

		Reference		Total
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
Total		19	54	73

Sensitivity	94.7	%	CI _{95%} : 75.4 to 99.1
Specificity	92.6	%	CI _{95%} : 82.4 to 97.1
Positive Predicted Value (PPV)	81.8	%	CI _{95%} : 72.9 – 90.7
Negative Predicted Value (NPV)	98.0	%	CI _{95%} : 94.8– 100.0

14. PRECISION AND REPEATABILITY

Table 2. Within-run precision

	No. of replicates	Mean Index	SD	CV%
Lot. no. 505	9	2.5	0.29	11.6
Lot. no. 506	9	2.1	0.27	12.9
Lot. no. 509	8	1.9	0.23	12.1

Table 3. Between-run and between-lots precision

Sample	Mean Index			Mean	SD	CV%
	Lot 505	Lot 506	Lot 509			
MYM 1	0.5	0.5	0.4	0.5	0.06	12.0
MYM 2	1.1	1.0	1.1	1.1	0.06	5.5
MYM 3	2.9	2.1	2.4	2.5	0.40	16.0

15. REFERENCES

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

16. 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.

17. SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE

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



GEBRAUCHSANWEISUNG

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgM

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

1. VERWENDUNGSZWECK

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) ist ein immunologisches Testkit für die automatisierte qualitative Bestimmung von IgM-Antikörpern gegen Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae ist der häufigste ätiologische Erreger einer in der Gemeinschaft erworbenen Lungenentzündung. IgM wird am häufigsten bei Primärinfektionen gefunden; 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 und solchen, bei denen eine erneute Infektion wahrscheinlicher ist, ist IgM niedrig oder nicht nachweisbar; im Gegensatz dazu ist IgA der Marker mit höherer Empfindlichkeit bei laufenden Infektionen, erneuten Infektionen oder kürzlichen Infektionen. Spezifische Antikörper der Klasse A treten bereits zu Beginn der Krankheit auf und erreichen in den ersten vier Wochen

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

Das für die serologische Bestimmung von spezifischem IgM verwendete Antigen wird aus einem Membranextrakt von M. Pneumoniae gewonnen, der signifikante Mengen von Cytoadhesin P1 enthält. Cytoadhesin P1 ist das immundominante Antigen und entspricht einem Transmembranprotein, das hauptsächlich für die Cytoadhärenz von M. Pneumoniae am respiratorischen Epithel des Wirts in der Frühphase der Infektion 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 in einem IgG-blockierenden Verdünnungsmittel verdünnten Test-Humanserums bindet das spezifische IgM an das Antigen.

Nach dem Waschen zur Entfernung nicht umgesetzter Proteine erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat, das aus monoklonalen humanen Antikörpern der Klasse IgM 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.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

NUR FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK GEEIGNET.

Achtung!

Dieses Kit enthält Materialien menschlichen Ursprungs, die sowohl auf HbsAg als auch auf Anti-HIV-1-, Anti-HIV-2- und Anti-HCV-Antikörper getestet 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 Einweghandschuhe und einen Augenschutz.

3. Waschen Sie sich gründlich die Hände, nachdem Sie die Geräte in das Instrument eingesetzt haben.
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 ist normalerweise für eine wirksame Desinfektion ausreichen.
6. Verschüttetes, möglicherweise infiziertes Material muss sofort mit saugfähigem Papier entfernt werden, und der verunreinigte Bereich muss gereinigt 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 Beseitigung 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/CHORUS TRIO verwendet werden, wobei die Gebrauchsanweisung und das Handbuch des Instruments genau zu beachten sind.
5. Prüfen Sie, ob das Instrument richtig eingestellt ist (siehe 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.

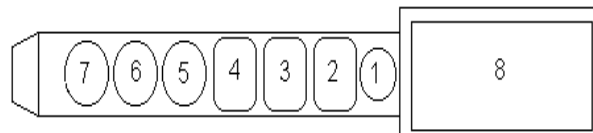
12. **Vergewissern Sie sich, dass das Instrument über einen Anschluss an den Waschpuffer (Ref. 83606) verfügt.**

5. ZUSAMMENSETZUNG DES KITS UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Das Kit ist ausreichend für 36 Bestimmungen.

DD GERÄTE 6 Packungen mit je 6 Geräten

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.



Beschreibung:

Position 8: Verfügbarer Platz für Barcode-Etikett

Position 7: NICHT VERWENDET

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG sensibilisiert mit *Mycoplasma pneumoniae*-Antigenen: Höchstkonzentration 2,45µg/ml

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG nicht sensibilisiert.

Position 4: TMB-SUBSTRAT

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

Position 3: VERDÜNNER FÜR PROBEN

Inhalt: Proteinlösung, die Anti-Human-IgG, Phenol 0,05%, Bronidox 0,02% und einem Indikator zum Nachweis von Serum enthält.

Position 2: KONJUGAT

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

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,175 ml

Inhalt: Verdünntes, flüssiges, gebrauchsfertiges Humanserum, bekannte Konzentration von Antikörpern mit Proclin 0.2% und Gentamicin 0.05%

CONTROL + POSITIVKONTROLLE 1 x 0,425 ml

Inhalt: Verdünntes, flüssiges, gebrauchsfertiges Humanserum, bekannte Konzentration von Antikörpern mit Proclin 0.2% und Gentamicin 0.05%.

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

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

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

SONSTIGES ERFORDERLICHES, ABER NICHT GELIEFERTES MATERIAL

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

6. LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

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

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

7. ART DER PROBE UND LAGERUNG

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

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

Frisches Serum ist bei 2/8°C 4 Tage lang haltbar; bei längerer Lagerung sollte es bei ≤ -20°C für höchstens 47 Monate eingefroren werden. Vermeiden Sie die Verwendung von selbstabtauenden Gefriergeräten für die Probenlagerung. Die Probe kann maximal 3 Mal aufgetaut werden. Nach dem Auftauen vor der Dosierung sorgfältig schütteln. Die Qualität der Probe kann durch mikrobielle Verunreinigungen stark beeinträchtigt werden, was zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann.

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

Der Test ist nicht auf Humanplasma anwendbar.

8. VERFAHREN

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

9. TEST-VALIDIERUNG

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

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

Tel: 0039 0577 319554

E-Mail: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Das Instrument liefert das Ergebnis in Index (OD Sample/OD Cut-off).

Der Test am Testserum kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: wenn das Ergebnis > 1,1 ist

NEGATIV: wenn das Ergebnis < 0,9 ist

ZWEIFELHAFT/ZWEIFEUTIG: wenn das Ergebnis zwischen 0,9 und 1,1 liegt.

Im Falle eines zweifelhaften/zweideutigen Ergebnisses ist der Test zu wiederholen. Bleibt das Ergebnis zweifelhaft/zweideutig, wiederholen Sie die Entnahme.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

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

Es ist möglich, dass Proben, die in einem frühen Stadium der Infektion entnommen wurden, noch nicht genügend Antikörper gebildet haben, um nachweisbar zu sein; im Zweifelsfall ist es ratsam, eine Probe 2-3 Wochen später erneut zu entnehmen und eine neue Analyse durchzuführen.

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

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Das Vorhandensein potenzieller Störfaktoren in der Serumprobe wie z. B.:

- Chlamydia Trachomatis (n=4)
- Chlamydia Pneumoniae (n=15)
- Epstein Barr-Virus (n=6)
- Cytomegalovirus (n=10)
- Rheumafaktor (n=7)
- Hämolyse (n=5)

ändert das Testergebnis nicht.

13. VERGLEICHENDE STUDIEN

Es wurden 73 Proben analysiert. Die mit beiden Kits erzielten zweifelhaften Ergebnisse wurden als positiv bewertet. Das Diesse-Kit ergab 4 falsch-positive Ergebnisse und 1 falsch-negatives Ergebnis.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 1.

		Referenz		Insgesamt
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Insgesamt	19	54	73

Empfindlichkeit	94,7	%	CI _{95%} : 75,4 bis 99,1
Besonderheiten	92,6	%	CI _{95%} : 82,4 bis 97,1
Positiv prädiktiver Wert (PPV)	81,8	%	CI _{95%} : 72,9 – 90,7
Negativ prädiktiver Wert (NPV):	98,0	%	CI _{95%} : 94,8– 100,0

14. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Tabelle 2. Präzision innerhalb der Sitzung

	Anzahl der Replikate	Durchschnittswert Index	Std-Abw.	CV %
Charge n 505	9	2,5	0,29	11,6
Charge n 506	9	2,1	0,27	12,9
Charge n 509	8	1,9	0,23	12,1

Tabelle 3. Präzision zwischen Sitzungen und zwischen Chargen

Probe	Durchschnittswert Index			Durchschnittswert	Std-Abw.	CV%
	Chargen 505	Chargen 506	Chargen 509			

MYM 1	0,5	0,5	0,4	,5	0,06	12,0
MYM 2	1,1	1,0	1,1	1,1	0,06	5,5
MYM 3	2,9	2,1	2,4	2,5	0,40	16,0

15. BIBLIOGRAPHIE

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

16. 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.

17. 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 IgM

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. URČENÉ POUŽITÍ

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) je imunologická souprava pro kvalitativní automatické stanovení protilátek IgM proti Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae je nejčastějším etiologickým agens způsobujícím komunitní zápal plic IgM se nejčastěji vyskytuje u primární 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 pro sérologické stanovení specifického IgM 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 v časně fázi infekce.

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 testovaného lidského séra zředěného v ředidle blokujícím IgG se specifický IgM naváže na antigen.

Po promytí k odstranění nezreagovaných proteinů se provede inkubace s konjugátem sestávajícím z monoklonálních protilátek proti lidskému IgM 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.

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Upozornění:

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány jak na HbsAg, tak 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 používejte jednorázové rukavice a ochranu očí.
3. Po vložení zařízení do přístroje 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 obvykle stačí působení 1% chlornanu sodného po dobu 30 minut.
6. Jakékoli rozlité potenciálně infikovaných materiálů musí být okamžitě odstraněno pomocí absorpčního papíru a znečištěný prostor musí být před pokračováním v práci vyčištěn, např. 1% chlornanem sodným. Pokud je přítomna kyselina, chlornan sodný nesmí být použit dříve, než bude zóna vysušena.

Veškeré materiály použité k čištění 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.

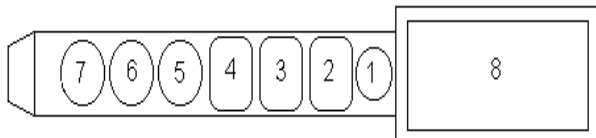
1. **Zařízení se substrátem (jamka 4) obarveným na modro vyhodte.**
2. Při přidávání vzorku do jamky zkontrolujte, zda je dokonale rozložen na dně.
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost činidel v zařízení a neporušenost samotného zařízení, nepoužívejte zařízení, které při vizuální kontrole vykazuje nedostatek některého činidla.
4. Zařízení je nutné používat společně s přístrojem CHORUS/CHORUS TRIO, přičemž je nutné striktně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku k přístroji.
5. Zkontrolujte, zda je přístroj správně nastaven (viz Uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti zařízení neměňte, aby jej přístroj správně odečetl.
7. Vyhněte se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků.
8. Vadné čárové kódy lze do přístroje zadat ručně.
9. Během skladování a používání nevystavujte zařízení silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Nepoužívejte hemolyzované, lipaemické a ikterické vzorky s vyšší koncentrací interferenčních látek, než je testovaná koncentrace (podle údajů v kapitole „Analytická specifita“).
11. Nepoužívejte zařízení po uplynutí doby použitelnosti
12. **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

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.



Popis:

Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem

Pozice 7: NEPOUŽITÉ

Pozice 6: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU senzibilizovaná antigeny *Mycoplasma pneumoniae*: maximální koncentrace 2,45 µg/ml

Pozice 5: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU nesenzibilizovaná.

Pozice 4: SUBSTRÁT TMB

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

Pozice 3: ŘEDIDLO PRO VZORKY

Obsah: Roztok bílkovin obsahující proti lidský IgG, fenol 0,05 %, Bronidox 0,02 % a indikátor ke zjištění přídavku séra.

Pozice 2: KONJUGOVANÉ

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA, kde uživatel dává neředěné sérum.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0,175 mL

Obsah: Zředěné lidské sérum, známá koncentrace protilátek s Proclinem 0.2% a Gentamicinem 0.05% , tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum, známá koncentrace protilátek s Proclinem 0.2% a Gentamicinem 0.05% , tekutina připravená k použití.

Spolehlivost měření kalibrátoru a pozitivní kontroly je zaručena řetězcem sledovatelnosti popsáním 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
- ČISTIČÍ ROZTOK 2000 **REF** 83609
- SANITAČNÍ ROZTOK **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVNÍ KONTROLA/ŘEDIDLO PRO VZORKY **REF** 83607
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: válce, zkumavky atd.
- Mikropipety schopné přesně odebírat objemy 50-200 µl
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby pro sběr potenciálně infikovaných materiálů

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA ČINIDEL

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

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

Činidla mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

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

7. TYP VZORKU A SKLADOVÁNÍ

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

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 4 dnů při teplotě 2/8 °C; pro delší skladování je třeba jej zmrazit při teplotě ≤ -20 °C na dobu nepřesahující 47 měsíců. Vyhněte se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků. Vzorek lze rozmrazit maximálně třikrát. Po rozmrazení před dávkováním pečlivě protřepejte. Kvalita vzorku může být vážně ovlivněna mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

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

Test není použitelný pro lidskou plazmu.

8. POSTUP

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

9. VALIDACE TESTU

Použijte kontrolní sérum k ověření správnosti získaného výsledku jeho zpracováním podle návodu k použití přístroje. Pokud přístroj indikuje, že kontrolní sérum má hodnotu mimo přijatelnou mez, je třeba kalibraci provést znovu. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny. Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte péče o zákazníky

Tel.: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETACE TESTU

Přístroj poskytuje výsledek v indexu (vzorek OD/mezní hodnota OD).

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1,1

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 0,9

SPORNÝ/NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek v rozmezí 0,9 až 1,1

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

11. OMEZENÍ POSTUPU

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

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

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

12. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Přítomnost potenciálních interferentů ve vzorku séra, jako jsou:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Vir Epstein-Barrové (n=6)
- Cytomegalovirus (n=10)
- Revmatoidní faktor (n=7)
- Hemolýza (n=5)

nemění výsledek testu.

13. SROVNÁVACÍ STUDIE

Bylo analyzováno 73 vzorků. Sporné výsledky získané s oběma soupravami byly považovány za pozitivní. Souprava Diesse poskytla 4 falešně pozitivní a 1 falešně negativní výsledek.

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Tabulka 1.

		Reference		Celkem
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Celkem	19	54	73

Citlivost	94,7 %	CI _{95%} : 75,4 až 99,1
Specifičnost	92,6 %	CI _{95%} : 82,4 až 97,1
Pozitivní prediktivní hodnota (PPV):	81,8 %	CI _{95%} : 72,9 – 90,7
Negativní prediktivní hodnota (NPV):	98,0 %	CI _{95%} : 94,8– 100,0

14. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Tabulka 2. Přesnost v rámci měření

	Počet opakování	Průměr (index)	DS	CV%
Šarže 505	9	2,5	0,29	11,6

Šarže 506	9	2,1	0,27	12,9
Šarže 509	8	1,9	0,23	12,1

Tabulka 3. Přesnost mezi měřeními a mezi šaržemi

Vzorek	Průměr (index)			Střed ní	DS	CV%
	Šarže 505	Šarže 506	Šarže 509			
MYM 1	0,5	0,5	0,4	0,5	0,06	12,0
MYM 2	1,1	1,0	1,1	1,1	0,06	5,5
MYM 3	2,9	2,1	2,4	2,5	0,40	16,0

15. 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

16. HLÁŠENÍ NEŽÁDOUCÍ UDÁLOSTI

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

17. 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 IgM

Pour le diagnostic *in vitro* uniquement

1. UTILISATION PRÉVUE

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (RÉF. 81035) est un kit immunologique pour la détermination automatisée qualitative automatisée des anticorps IgM contre Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae est l'agent étiologique le plus courant de la pneumonie communautaire. Les IgM sont le plus souvent trouvées dans les cas de primo-infection ; 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 pour la détermination sérologique des IgM 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 qui est la principale responsable de la cytoadhérence de M. pneumoniae à l'épithélium respiratoire de l'hôte au cours de la phase initiale de l'infection.

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 à tester dilué dans un diluant bloquant les IgG, les IgM 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-IgM 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.

4. PRÉCAUTIONS

À DES FINS DE DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT.

Attention :

Ce kit contient des matériaux d'origine humaine qui ont été testés pour la recherche du HBsAg et des 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 pipéter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'instrument.
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 suffit normalement 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 nettoyée, 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 nettoyer 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.

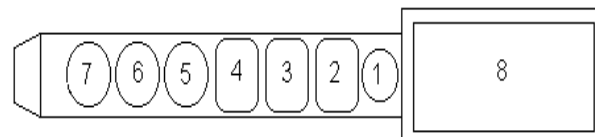
1. **Jeter les dispositifs dont le substrat (puits 4) est coloré en bleu.**
2. Lors de l'ajout de l'échantillon dans le puits, vérifier qu'il soit parfaitement réparti sur le fond.
3. Vérifier la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif lui-même, ne pas utiliser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

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.



Description :

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

Position 7 : NON UTILISÉ

Position 6 : Puits DE MICROPLAQUE sensibilisé aux antigènes de *Mycoplasma pneumoniae* : concentration maximale 2,45 µg/ml

Position 5 : Puits DE MICROPLAQUE non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

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

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

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

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : anticorps monoclonaux anti-IgM : (concentration maximale 1 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 : Puits VIDE où l'utilisateur distribue le sérum non dilué.

CALIBRATOR ÉTALON 1 x 0,175 mL

Contenu : Sérum humain dilué, à concentration connue d'anticorps avec Proclin 0.2% et Gentamicine 0.05% , liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,425 mL

Contenu : Sérum humain dilué, à concentration connue d'anticorps avec Proclin 0.2% et Gentamicine 0.05% , liquide, prêt à l'emploi.

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

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

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

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

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

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

6. MODE DE STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET STOCKAGE

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

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

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours à 2/8 °C ; pour des périodes de stockage plus longues, il peut être congelé à des températures ≤ -20 °C pendant une période ne dépassant pas 47 mois. Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. L'échantillon peut subir un maximum de 3 décongélations. Après décongélation, agiter soigneusement avant le dosage. La qualité de l'échantillon peut être sérieusement affectée par la contamination microbienne, ce qui peut conduire à des résultats erronés.

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

Le test n'est pas applicable au plasma humain.

8. PROCÉDURE

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

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

9. VALIDATION DU TEST

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

Si le résultat du sérum de contrôle continue à se situer en dehors de la fourchette acceptable, contacter service clientèle

Tél : 0039 0577 319554
courriel : scientificsupport@diesse.it
: customercare@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'instrument fournit le résultat en indice (OD échantillon/OD cut-off).

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

POSITIF : lorsque le résultat est $\geq 1,1$

NÉGATIF : lorsque le résultat est $< 0,9$

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE : lorsque le résultat est compris entre 0,9 et 1,1

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

11. LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

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, il est conseillé de prélever à nouveau un échantillon 2 à 3 semaines plus tard et de procéder à une nouvelle analyse.

Il est conseillé de procéder à une centrifugation ou à une filtration avant d'utiliser des échantillons lipémiques ou troubles.

12. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

La présence dans l'échantillon de sérum d'interférents potentiels tels que :

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Virus d'Epstein Barr (n=6)
- Cytomégalo virus (n=10)
- Facteur rhumatoïde (n=7)
- Hémolyse (n=5)

n'altère pas le résultat du test.

13. ÉTUDES COMPARATIVES

73 échantillons ont été analysés. Les résultats douteux obtenus avec les deux kits ont été considérés comme positifs. Le kit de Diesse a donné 4 faux positifs et 1 faux négatif.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 1.

		Référence		Total
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Total	19	54	73

Sensibilité	94,7	%	CI _{95%} : 75,4 à 99,1
Spécificité	92,6	%	CI _{95%} : 82,4 à 97,1
Valeur prédictive positive (VPP)	81,8	%	CI _{95%} : 72,9 – 90,7
Valeur prédictive négative (VPN)	98,0	%	CI _{95%} : 94,8– 100,0

14. PRÉCISION ET RÉPÉTABILITÉ

Tableau 2. Précision au sein de la session

	Nombre de répliques	Moyenne Indice	Dev. St.	CV%
Lot 505	9	2,5	0,29	11,6
Lot 506	9	2,1	0,27	12,9
Lot 509	8	1,9	0,23	12,1

Tableau 3. Précision entre les sessions et entre les lots

Échantillon	Moyenne Indice			Moyenne	Dev. St.	CV%
	Lot 505	Lot 506	Lot 509			
MYM 1	0,5	0,5	0,4	0,5	0,06	12,0
MYM 2	1,1	1,0	1,1	1,1	0,06	5,5
MYM 3	2,9	2,1	2,4	2,5	0,40	16,0

15. BIBLIOGRAPHIE

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma

pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171

5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

16. 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.

17. 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 IgM

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (Κωδ. 81035) είναι ένα ανοσολογικό kit για τον αυτοματοποιημένο ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgM έναντι του Mycoplasma Pneumoniae.

Το μυκόπλασμα (Mycoplasma Pneumoniae) της πνευμονίας είναι το πιο κοινό παθογόνο αίτιο πνευμονίας της κοινότητας. Τα αντισώματα κλάσης IgM ανευρίσκονται συχνότερα σε περιπτώσεις πρωτογενούς λοίμωξης- ως εκ τούτου, το kit χρησιμοποιείται ως βοήθημα στη διάγνωση της λοίμωξης από πνευμονία.

Η δοκιμή, η οποία εκτελείται σε ανθρώπινο ορό με τη χρήση μιας συσκευής μιας χρήσης που συνδέεται με τα όργανα CHORUS/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 κροσσώδη 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 για τον ορολογικό προσδιορισμό των εκλεκτικών IgM προέρχεται από ένα εκχύλισμα της μεμβράνης M. pneumoniae που περιέχει σημαντική ποσότητα κυτοαδεσίνης P1 που είναι το αντιγόνο που επικρατεί ανοσολογικά και αντιστοιχεί σε μια πρωτεΐνη μεμβρανικού μεταφορέα, κυρίως υπεύθυνης, στην πρώτη φάση της μόλυνσης, για την κυτταρική σύμφυση του M. pneumoniae στο αναπνευστικό επιθήλιο του ξενιστή.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η δοκιμή βασίζεται στην έμμεση μέθοδο ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Το αντιγόνο, που αποτελείται από εκχύλισμα αδρανοποιημένου μυκοπλάσματος της πνευμονίας, δεσμεύεται στη στερεά φάση. Με την επώαση του ανθρώπινου ορού σε εξέταση, διαλυμένου σε έναν διαλύτη που παρεμποδίζει τις IgG, οι εκλεκτικές IgM συνδέονται στο αντιγόνο.

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

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν 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.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Προσοχή:

Αυτό το kit περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ για την ανίχνευση τόσο του HbsAg όσο 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.
3. Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τις συσκευές στο όργανο.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο kit, 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 είναι συνήθως αρκετή για να εγγυηθεί 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 καθαρίζεται, 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 τον καθαρισμό 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/CHORUS TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο του οργάνου.
5. Ελέγξτε ότι το όργανο έχει ρυθμιστεί σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης).
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.

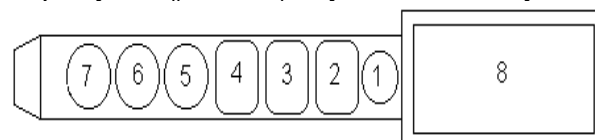
8. Οι ελαττωματικοί γραμμωτοί κώδικες μπορούν να εισαχθούν χειροκίνητα στο όργανο.
9. Μην εκθέτετε τις συσκευές σε έντονο φως ή ατμούς υποχλωριώδους κατά την αποθήκευση και τη χρήση.
10. Μην χρησιμοποιείτε αιμολυμένα, λιπαιμικά, ικτερικά δείγματα με συγκέντρωση παρεμβαλλόμενων παραγόντων υψηλότερη από 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 kit επαρκεί για 36 προσδιορισμούς.

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ 6 πακέτα των 6 συσκευών το κάθε ένα

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.



Περιγραφή:

Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: ΔΕΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ ευαισθητοποιημένη με αντιγόνα *Mycoplasma pneumoniae*: μέγιστη συγκέντρωση 2,45μg/ml

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IgM: μέγιστη συγκέντρωση 1 μg/ml μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός, σε γνωστή συγκέντρωση αντισωμάτων με Proclin 0.2% και γενταμικίνη 0.05%, υγρός, έτοιμος προς χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0.425 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός, σε γνωστή συγκέντρωση αντισωμάτων με Proclin 0.2% και γενταμικίνη 0.05% , υγρός, έτοιμος προς χρήση.

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

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

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

ΆΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΤΥΠΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

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

Σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή H18-A3 της CLSI, τα δείγματα ορού για ανάλυση πρέπει να πηχτούν πριν από τη φυγοκέντρωση - 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 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ για χρονικό διάστημα που δεν υπερβαίνει τους 47 μήνες. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση δειγμάτων. Το δείγμα μπορεί να υποστεί το πολύ 3 αποψύξεις. Μετά την απόψυξη, ανακινήστε προσεκτικά πριν από τη δοσομέτρηση. Η ποιότητα του δείγματος μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά από μικροβιακή μόλυνση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα αποτελέσματα.

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

Η δοκιμή δεν εφαρμόζεται στο ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Χρησιμοποιήστε τον ορό του μάρτυρα για να επαληθεύσετε την ορθότητα του λαμβανόμενου αποτελέσματος, ακολουθώντας τη διαδικασία που υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου. Αν το όργανο προειδοποιήσει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή εκτός αποδεκτής διακυμάνσεως, χρειάζεται να επαναληφθεί η βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα. Εάν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός του αποδεκτού εύρους, επικοινωνήστε με το Τμήμα εξυπηρέτησης πελατών.

Τηλ.: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Το όργανο παρέχει το αποτέλεσμα σε Index (DO δείγμα/DO cut-off).

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

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 1.1

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 0.9

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 0.9 και 1.1

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε τη δοκιμή. Εάν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολου/ασαφές, επαναλάβετε τη δειγματοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Τα αποτελέσματα πρέπει πάντα να αξιολογούνται σε συνδυασμό με άλλα δεδομένα που προέρχονται από την κλινική αξιολόγηση και άλλες διαγνωστικές εξετάσεις. Είναι πιθανό δείγματα που λαμβάνονται σε πρώιμο στάδιο της λοίμωξης να μην έχουν ακόμη αναπτύξει αντισώματα σε επαρκή ποσότητα ώστε να είναι ανιχνεύσιμα- σε περίπτωση αμφιβολίας, συνιστάται να ληφθεί εκ νέου δείγμα 2-3 εβδομάδες αργότερα και να πραγματοποιηθεί νέα ανάλυση. Πριν από την ανάλυση λιπαιμικών ή θολερών δειγμάτων, συνιστάται φυγοκέντρωση ή διήθηση.

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ

Η παρουσία στο δείγμα ορού πιθανών παρεμβαλλόμενων παραγόντων, όπως:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Ιός Epstein Barr (n=6)
- Κυτταρομεγαλοϊός (n=10)
- Ρευματοειδής παράγοντας (n=7)
- Αιμόλυση (n=5)

δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα της δοκιμής.

13. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Αναλύθηκαν 73 δείγματα. Τα αμφίβολα αποτελέσματα που προέκυψαν και με τα δύο kit θεωρήθηκαν θετικά. Το kit Diesse έδωσε 4 ψευδώς θετικά αποτελέσματα και 1 ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα.

Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 1.

		Αναφορά		Σύνολο
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
Σύνολο		19	54	73

Ευαισθησία	94.7	%	CI _{95%} : 75.4 έως 99.1
Ειδικότητα	92.6	%	CI _{95%} : 82.4 έως 97.1
Θετική προγνωστική αξία (PPV):	81.8	%	CI _{95%} : 72.9 – 90.7
Αρνητική προγνωστική αξία (NPV):	98,0	%	CI _{95%} : 94.8– 100.0

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Πίνακας 2. Ακρίβεια εντός αναλυτικού κύκλου

	Αριθμός επαναλήψεων	Μέση τιμή Index	SD	CV%
Παρτίδα 505	9	2.5	0.29	11.6
Παρτίδα 506	9	2.1	0.27	12.9
Παρτίδα 509	8	1.9	0.23	12.1

Πίνακας 3. Ακρίβεια μεταξύ αναλυτικών κύκλων και μεταξύ παρτίδων

Δείγμα	Μέση τιμή Index			Μέση τιμή	SD	CV%
	Παρτίδα 505	Παρτίδα 506	Παρτίδα 509			
MYM 1	0.5	0.5	0.4	0.5	0.06	12.0
MYM 2	1.1	1.0	1.1	1.1	0.06	5.5
MYM 3	2.9	2.1	2.4	2.5	0.40	16.0

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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

16. 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.

17. 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 IgM

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

1. USO PREVISTO

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) es un kit inmunológico para la determinación cualitativa automatizada de anticuerpos IgM contra Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae es el agente etiológico más común causante de neumonía adquirida en la comunidad. La IgM se encuentra con mayor frecuencia en casos de infección primaria; 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 los pacientes de más edad y en los que tienen más probabilidades de reinfectarse, la IgM es baja o indetectable; en cambio, la IgA es el marcador de mayor sensibilidad en las infecciones en curso, las reinfecciones o las infecciones recientes.

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

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

El antígeno utilizado para la determinación serológica de la IgM específica procede 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 que es la principal responsable de la citoadherencia de M. pneumoniae al epitelio respiratorio del hospedador en la fase inicial de la infección.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

El antígeno, consistente en un extracto de Mycoplasma pneumoniae inactivado, se une a la fase sólida. Al incubar el suero humano de la prueba diluido en un diluyente bloqueador de IgG, la IgM 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-IgM 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.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Atención:

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido analizados para la búsqueda de 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.
3. Lavarse bien las manos después de insertar los dispositivos en el instrumento.

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 es, por lo general, suficiente para garantizar una desinfección eficaz.
6. Cualquier derrame de materiales potencialmente infectados debe retirarse inmediatamente con papel absorbente y la zona contaminada debe estar limpia, 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 limpiar derrames accidentales, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos potencialmente infecciosos. No esterilizar en autoclave materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias analíticas

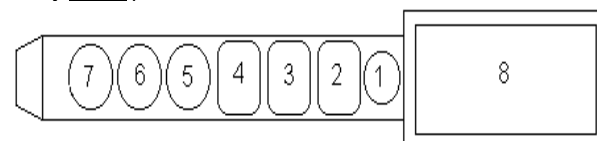
Ponga los dispositivos que vaya a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) durante al menos 30 minutos, y utilícelos antes de 60 minutos.

1. **Deseche 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/CHORUS TRIO, siguiendo estrictamente las instrucciones de uso y el manual del usuario del instrumento.
5. Compruebe que el instrumento esté configurado correctamente (consulte el Manual del usuario).
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 utilice 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
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.



Descripción:

Posición 8: Espacio disponible para etiqueta de código de barras

Posición 7: NO UTILIZADO

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA sensibilizadas con antígenos de *Mycoplasma pneumoniae*: concentración máxima 2,45µg/ml

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución proteica que contiene anti-IgG humano, con fenol al 0,05%, Bronidox al 0,02% y un indicador para detectar la adición de suero.

Posición 2: CONJUGADO

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

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,175 ml

Contenido: Suero humano diluido, concentración conocida de anticuerpos con Proclin 0.2% y Gentamicina 0.5 % líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,425 ml

Contenido: Suero humano diluido, concentración conocida de anticuerpos con Proclin 0.2% y Gentamicina 0.05%, líquido, listo para su uso.

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

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

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

OTRO MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- TAMPÓN DE LAVADO **REF** 83606
- SOLUCIÓN LIMPIADORA 2000 **REF** 83609
- SOLUCIÓN DESINFECTANTE **REF** 83604 - 83608

- CHORUS CONTROL NEGATIVO/ DILUYENTE DE MUESTRAS **REF** 83607
- Agua destilada o desionizada
- Material de vidrio normal de laboratorio: cilindros, probetas, etc.
- Micropipetas capaces de tomar con precisión volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito sódico al 5%
- Contenedores para la recogida de materiales potencialmente infectados

6. MODO DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

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

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

El suero fresco puede conservarse durante 4 días a 2/8°C; para periodos de almacenamiento más largos, congélelo a temperaturas de $\leq -20^{\circ}\text{C}$ por un periodo no superior a 47 meses. Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras. La muestra puede someterse a un máximo de 3 descongelaciones. Tras la descongelación, agite cuidadosamente antes de la dosificación. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, lo que puede dar lugar a resultados erróneos.

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

La prueba no es aplicable al plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

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

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

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBAS

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

Si el resultado del control positivo sigue estando fuera del intervalo aceptable, póngase en contacto con el Servicio de Atención al Client

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

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El instrumento proporciona el resultado en Índice (muestra OD/OD cut-off).

La prueba del suero problema puede interpretarse del siguiente modo:

POSITIVO: cuando el resultado es $> 1,1$

NEGATIVO: cuando el resultado es $< 0,9$

DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando el resultado está entre 0,9 y 1,1.

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

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

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

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 es aconsejable volver a tomar una muestra 2-3 semanas después y realizar un nuevo análisis.

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

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

La presencia en la muestra de suero de posibles interferentes como:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Virus de Epstein Barr (n=6)
- Citomegalovirus (n=10)
- Factor reumatoide (n=7)
- Hemólisis (n=5)

no altera el resultado de la prueba.

13. ESTUDIOS COMPARATIVOS

Se analizaron 73 muestras. Los resultados dudosos obtenidos con ambos kits se consideraron positivos. El kit Diesse dio 4 falsos positivos y 1 falso negativo. Los datos se resumen en el cuadro siguiente.

Cuadro 1.

		Referencia		Total
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
Total		19	54	73

Sensibilidad	94,7	%	CI _{95%} : 75,4 a 99,1
Especificidad	92,6	%	CI _{95%} : 82,4 a 97,1
Valor predictivo positivo (VPP):	81,8	%	CI _{95%} : 72,9 – 90,7
Valor predictivo negativo (VPN):	98,0	%	CI _{95%} : 94,8– 100,0

14. PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

Tabla 2. Precisión en la sesión

	Número de replicas	Índice medio	DS	CV%
Lote 505	9	2,5	0,29	11,6
Lote 506	9	2,1	0,27	12,9
Lote 509	8	1,9	0,23	12,1

Tabla 3. Precisión entre sesiones y entre lotes

Muestra	Índice medio			Media	DS	CV%
	Lote 505	Lote 506	Lote 509			
MYM 1	0,5	0,5	0,4	0,5	0,06	12,0
MYM 2	1,1	1,0	1,1	1,1	0,06	5,5
MYM 3	2,9	2,1	2,4	2,5	0,40	16,0

15. BIBLIOGRAFÍA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000),146,741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma

pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171

5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

16. 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.

17. 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 IgM

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO PREVISTA

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) é um kit imunológico para a determinação qualitativa automatizada de anticorpos IgM contra Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae é o agente etiológico mais comum que causa pneumonia adquirida em ambientes comunitários. IgM é mais frequentemente encontrado em casos de infecção primária; 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/CHORUS TRIO, só deve ser utilizado por pessoal de laboratório profissional.

2. INTRODUÇÃO

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

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

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

A resposta imunitária após a infecção por Mycoplasma pneumoniae parece estar relacionada com o tipo de infecção em si: os anticorpos da classe IgM estão presentes mais frequentemente em casos de infecção primária, como evidenciado pela sua ocorrência em doentes mais jovens. Nos doentes mais velhos e nos que têm maior probabilidade de serem reinfetados, a IgM é baixa ou indetectável; em contrapartida, a IgA é o marcador de maior sensibilidade nas infecções em curso, nas reinfecções ou nas infecções recentes. Os anticorpos específicos da classe A aparecem precocemente, no início da doença, e atingem títulos elevados nas primeiras 4 semanas, decaindo depois abruptamente antes da IgG, o que permite o diagnóstico da infecção aguda mesmo com uma única amostra de sangue. As IgG aparecem depois das IgM e IgA, em média atingem o pico máximo na 5ª semana. Um título elevado, acompanhado de

um aumento significativo entre duas colheitas com cerca de 2 semanas de intervalo, confirma a presença de uma infecção em curso.

O antígeno utilizado para a determinação serológica de IgM 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 que é principalmente responsável pela citoaderência de M. pneumoniae ao epitélio respiratório do hospedeiro na fase inicial da infecção.

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. Ao incubar o soro humano de teste diluído num diluente bloqueador de IgG, a IgM 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-IgM humanos conjugados com peroxidase de rábano.

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

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

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para efetuar o teste.

4. PRECAUÇÕES

APENAS PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Atenção:

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados tanto para o HbsAg como 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.
3. Lave bem as mãos depois de inserir os dispositivos no instrumento.
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 é normalmente suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Qualquer derrame de materiais potencialmente infectados deve ser imediatamente removido com papel absorvente e a área contaminada deve ser limpa, 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 limpar 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.

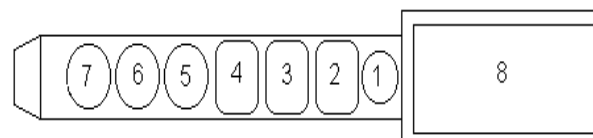
1. **Rejeitar os dispositivos com substrato (compartimento 4) de cor azul.**
2. Ao adicionar a amostra ao compartimento, verificar se está perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença real dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que revelem a falta de algum reagente numa inspeção visual.
4. Os dispositivos devem ser utilizados em conjunto com o instrumento CHORUS/CHORUS TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.
5. Verifique se o instrumento está corretamente definido (consulte o Manual do instrumento).
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-descongelação 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
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.



Descrição:

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

Posição 7: NÃO UTILIZADO

posição 6: COMPARTIMENTO DE MICROPLACA sensibilizado com antígenos de *Mycoplasma pneumoniae*: concentração máxima 2,45µg/ml

Posição 5: COMPARTIMENTO DE MICROPLACA não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica, contendo anti-IgG humana, fenol a 0,05%, Bronidox a 0,02% e um indicador para detetar a adição de soro.

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgM: concentração máxima de 1 µg/ml marcados com peroxidase em solução tampão fosfato contendo 0,05% de fenol e Bronidox 0,02%.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,175 mL

Conteúdo: Soro humano diluído, concentração conhecida de anticorpos com Proclin 0.2% e Gentamicina 0.05% , líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,425 mL

Conteúdo: Soro humano diluído, concentração conhecida de anticorpos com Proclin 0.2% e Gentamicina 0.05% , líquido, pronto a usar.

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

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

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

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumento CHORUS/CHORUS 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 ≤-20°C durante pelo menos 47 meses. Evitar a utilização de congeladores de auto-descongelação para o armazenamento de amostras. A amostra pode ser submetida a um máximo de 3 descongelações. 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 devem ser utilizadas amostras fortemente lipémicas, ictericas, hemolisadas ou contaminadas.

O teste não é aplicável ao plasma humano.

8. PROCEDIMENTO

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

mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.

4. Introduzir os dispositivos no instrumento CHORUS/CHORUS TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste de acordo com o Manual de Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

Se o resultado do soro de controlo continuar a estar fora do intervalo aceitável, Contactar con el servicio de atención al cliente.

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento fornece o resultado em Index (OD amostra/OD cut-off).

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

POSITIVO: quando o resultado é > 1,1

NEGATIVO: quando o resultado é < 0,9

DUVIDOSO/EQUÍVOCO: quando o resultado se situa entre 0,9 e 1,1.

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

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

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

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, é aconselhável voltar a colher uma amostra 2-3 semanas mais tarde e efetuar uma nova análise.

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

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

A presença na amostra de soro de potenciais interferentes, tais como:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Epstein Barr virus (n=6)
- Cytomegalovirus (n=10)
- Fator Reumatóide (n=7)
- Hemólise (n=5)

não altera o resultado do teste.

13. ESTUDOS COMPARATIVOS

Foram analisadas 73 amostras. Os resultados duvidosos obtidos com ambos os kits foram considerados positivos. O kit Diesse deu 4 falsos positivos e 1 falso negativo. Os resultados são resumidos no quadro seguinte:

Tabela 1.

Diesse		Referência		Total
		+	-	
	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Total	19	54	73

Sensibilidade	94.7	%	CI _{95%} : 75.4 a 99.1
Especificidades	92.6	%	CI _{95%} : 82.4 a 97.1
Valor preditivo positivo (PPV):	81.8	%	CI _{95%} : 72.9 – 90.7
Valor Preditivo Negativo (NPV)	98.8	%	CI _{95%} : 94.8– 100.0

14. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Tabela 2. Precisão na sessão

	Número de réplicas	Media Index	DS	CV%
Lote 505	9	2.5	0.29	11.6
Lote 506	9	2.1	0.27	12.9
Lote 509	8	1.9	0.23	12.1

Tabela 3. Precisão entre sessões e entre lotes

Amostra	Media Index			Media	DS	CV%
	Lote 505	Lote 506	Lote 509			
MYM 1	0.5	0.5	0.4	0.5	0.06	12.0
MYM 2	1.1	1.0	1.1	1.1	0.06	5.5
MYM 3	2.9	2.1	2.4	2.5	0.40	16.0

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171

5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

16. 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.

17. 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 IgM

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZAREA PREVĂZUTĂ

CHORUS Mycoplasma pneumoniae IgM (REF 81035) este un kit imunologic pentru determinarea automată calitativă a anticorpilor IgM împotriva Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae este cel mai frecvent agent etiologic care cauzează pneumonia dobândită în comunitate. IgM se găsește cel mai frecvent în infecția primară; prin urmare, kitul este utilizat ca ajutor în diagnosticarea infecției cu pneumonie.

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

2. INTRODUCERE

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

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

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

Răspunsul imun după infecția cu Mycoplasma pneumoniae pare să fie legat de tipul de infecție în sine: anticorpii 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.

Anticorpii 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 pentru determinarea serologică a IgM 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 în faza timpurie a infecției.

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 examinat diluat într-un diluant care blochează IgG, IgM specifice se leagă de antigen.

După spălare, pentru a îndepărta proteinele care nu au reacționat, se efectuează incubarea cu conjugatul constând din anticorpi monoclonali IgM 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.

4. PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO.

Atenție:

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate atât pentru prezența HbsAg, cât 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.
3. Spălați-vă bine mâinile după introducerea dispozitivelor în instrumentul.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibilă pe site-ul DIESSE: www.diesse.it)
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu într-un volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la hipoclorit de sodiu 1% timp de 30 de minute este în mod normal suficientă pentru a asigura o dezinfecție eficientă.

6. Orice scurgeri de materiale potențial infectate trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie curățată, 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 curățarea eventualelor scurgeri accidentale, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase. Nu introduceți în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

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

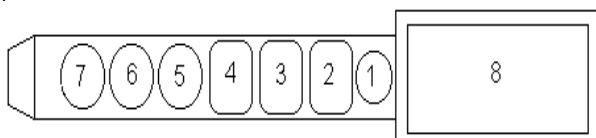
1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 4) colorat în albastru.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză; nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul instrumentului.
5. Verificați dacă instrumentul este setat corect (vezi Manualul de utilizare).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului, pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
8. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument.
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. A nu se utiliza probe hemolizate, lipemice, icterice cu o concentrație de interferenți mai mare decât cea testată (conform indicațiilor furnizate în capitoul „Specificitatea analitică”).
11. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare
12. **Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare (Ref. 83606)**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări.

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare

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.



Descriere:

Poziția 8: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 7: NU SE UTILIZEAZĂ

Poziția 6: GODEU DE MICROPLACĂ sensibilizat cu antigeni de *Mycoplasma pneumoniae*: concentrație maximă 2,45 μg/ml

Poziția 5: GODEU DE MICROPLACĂ nesensibilizat.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

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

Poziția 3: DILUANT PENTRU PROBE

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

Poziția 2: CONJUGAT

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

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,175 mL

Conținut: Ser uman diluat, concentrație cunoscută de anticorpi cu Proclin 0.02% și Gentamicină 0.05%, lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,425 mL

Conținut: Ser uman diluat, concentrație cunoscută de anticorpi cu Proclin 0.2% și Gentamicină 0.05%, lichid, gata de utilizare.

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

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

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

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SOLUȚIE DE DEZINFECTARE **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- 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 PROBĂ ȘI DEPOZITARE

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

Conform ghidului CLSI H18-A3, probele de ser care urmează să fie analizate trebuie coagulate înainte de centrifugare; coagularea spontană și completă are loc în mod normal în interval de 30-60 de minute la 22°C-25°C. Se recomandă separarea fizică a serului, prin centrifugare, de contactul cu celulele 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 $\leq -20^\circ\text{C}$ pentru o perioadă care nu depășește 47 de luni. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor. Proba poate fi supusă unui număr maxim de 3 decongelări. După decongelare, agitați cu atenție înainte de dozare. Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate conduce la rezultate eronate.

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

Testul nu este aplicabil la plasma umană.

8. PROCEDURA

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

9. VALIDAREA TESTULUI

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

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

Dacă rezultatul serului de control continuă să se încadreze în afara intervalului acceptabil, contactați Îngrijirea clienților.

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

10. INTERPRETAREA TESTULUI

Instrumentul oferă rezultatul în Index (OD probă/cut-off OD).

Testul pe serul examinat poate fi interpretat astfel:

POZITIV: când rezultatul este $> 1,1$

NEGATIV: când rezultatul este $< 0,9$

ÎNDOIELNIC/ECHIVOC: când rezultatul este cuprins între 0,9 și 1,1

În cazul unui rezultat îndoielnic/echivoc, repetați testul. Dacă rezultatul rămâne îndoielnic/echivoc, repetați prelevarea.

11. LIMITĂRILE PROCEDURII

Rezultatele trebuie interpretate întotdeauna împreună cu alte date din evaluarea clinică și alte investigații de diagnosticare. 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 m, se recomandă repetarea unei recoltări după 2-3 săptămâni și efectuarea unui nou test.

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

12. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Prezența în proba de ser a unor potențiali interferenți, cum ar fi:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Epstein Barr virus (n=6)
- Cytomegalovirus (n=10)
- Factor reumatoid (n=7)
- Hemoliză (n=5)

nu modifică rezultatul testului.

13. STUDII COMPARATIVE

Au fost analizate 73 de probe. Rezultatele îndoielnice obținute cu ambele kituri au fost considerate pozitive. Kitul Diesse a dat 4 rezultate fals pozitive și 1 rezultat fals negativ. Rezultatele sunt prezentate pe scurt în tabelul următor.

Tabelul 1.

		Referință		Total
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Total	19	54	73

Sensibilitate	94,7 %	CI _{95%} : de la 75,4 până la 99,1
Specificitate	92,6 %	CI _{95%} : de la 82,4 până la 97,1
Valoare predictivă	81,8 %	CI _{95%} : 72,9 – 90,7

pozitivă
(PPV):
Valoarea
predictivă
negativă
(NPV)

98,0 % CI95%: 94.8– 100.0

14. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Tabelul 2. Precizia în cadrul ședinței

	Numărul de repetări	Media Index	DS	CV%
Lot 505	9	2,5	0,29	11,6
Lot 506	9	2,1	0,27	12,9
Lot 509	8	1,9	0,23	12,1

Tabelul 3. Precizia între ședințe și între loturi

Probă	Media Index			Medie	DS	CV%
	Lot 505	Lot 506	Lot 509			
MYM 1	0,5	0,5	0,4	0,5	0,06	12,0
MYM 2	1,1	1,0	1,1	1,1	0,06	5,5
MYM 3	2,9	2,1	2,4	2,5	0,40	16,0

15. 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

16. 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.

17. 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 IgM

Samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu

1. NAMJENA

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) je imunološki komplet za automatizirano određivanje IgM protutijela protiv Mycoplasma pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae najčešći je etiološki uzročnik koji uzrokuje upalu pluća stečenu u zajednici. IgM se češće nalaze u slučajevima primarne 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 /CHORUS TRIO, smije koristiti samo stručno laboratorijsko osoblje.

2. UVOD

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

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

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

Imunološki odgovor, nakon infekcije 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 infekcijama u tijeku, ponovnim infekcijama ili nedavnim infekcijama.

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

Antigen koji se koristi za serološko određivanje specifičnog IgM-a proizlazi iz membranskog ekstrakta M. pneumoniae koji sadrži značajne količine citoadhezina P1 koji je

imunodominantni antigen i odgovara transmembranskom proteinu, uglavnom odgovornom, u prvoj fazi infekcije, za citoadherenciju M. pneumoniae na respiratorni sustav.

3. NAČELO METODE

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

Antigen, koji se sastoji od inaktiviranog ekstrakta Mycoplasma pneumoniae, veže se za čvrstu fazu. Inkubacijom ljudskog testnog seruma razrijeđenog u razrjeđivaču koji blokira IgG, specifični IgM veže se za antigen.

Nakon pranja kako bi se uklonili proteini koji nisu reagirali, inkubacija se provodi s konjugatom koji se sastoji od ljudskih protu-IgM 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.

4. MJERE OPREZA

SAMO ZA IN VITRO DIJAGNOSTIČKU UPORABU.

Pozor:

Ovaj komplet sadrži materijale ljudskog podrijetla koji su testirani 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 koristite jednokratne rukavice i zaštitu za oči.
3. Temeljito operite ruke nakon što se uređaji umetnu u instrument.
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 je obično dovoljna kako bi se osigurala učinkovita dezinfekcija.
6. Svako izlijevanje potencijalno zaraženog materijala mora se odmah ukloniti upijajućim papirom, a zagađeno područje mora se očistiti, na primjer s 1% natrijevog hipoklorita, prije nastavka rada. Ako je prisutna kiselina, natrijev hipoklorit se ne smije koristiti prije nego što se područje osuši.

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

Analitička upozorenja

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

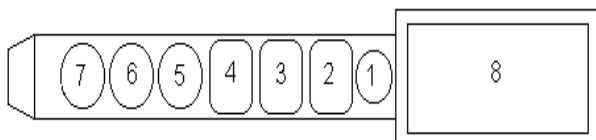
1. **Odbacite uređaje čiji je supstrat (jažica 4) plave boje.**
2. Prilikom dodavanja uzorka u jažicu provjerite da je besprijekorno raspoređen na dnu.
3. Provjerite stvarnu prisutnost reagensa u uređaju i cjelovitost samog uređaja, nemojte koristiti uređaje kojima nedostaje neki reagens prilikom vizualnog pregleda.
4. Uređaji se moraju koristiti zajedno s instrumentom CHORUS/CHORUS TRIO, strogo slijedeći Upute za uporabu i Priručnik instrumenta.
5. Provjerite je li instrument ispravno postavljen (pogledajte Priručnik za uporabu).
6. Nemojte mijenjati crtični kod postavljen na ručku uređaja kako biste omogućili ispravno očitavanje instrumenta.
7. Izbjegavajte uporabu zamrzivača koji se sami odmrzavaju za čuvanje uzoraka.
8. Neispravni crtični kodovi mogu se unijeti ručno u instrument.
9. Ne izlažite uređaje jakoj rasvjeti ili pari hipoklorita tijekom skladištenja i uporabe.
10. Nemojte koristiti hemolizirane, lipemske, ikterične uzorke s koncentracijom disruptora većom od one ispitivane (prema uputama navedenima u poglavlju „Analitička specifičnost“).
11. Ne koristiti uređaj nakon datuma isteka
12. **Provjerite ima li instrument vezu s puferom za ispiranje (Ref. 83606)**

5. SASTAV KOMPLETA I PRIPREMA REAGENSA

Komplet je dovoljan za 36 određivanja.

DD UREĐAJI 6 paketa svaki od 6 uređaja

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



Opis:

Položaj 8: Prostor dostupan za oznaku crtičnog koda

Položaj 7: NE KORISTI SE

Položaj 6: JAŽICA MIKROPLOČICE senzibilizirana s antigenima *Mycoplasma pneumoniae*: maksimalna koncentracija 2,45 µg/ml

Položaj 5: JAŽICA MIKROPLOČICE nije senzibilizirana.

Položaj 4: TMB SUPSTRAT

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

Položaj 3: RAZRJEDIVAČ ZA UZORKE

Sadržaj: Proteinska otopina koja sadrži ljudski protu IgG, fenol 0,05%, Bronidox 0,02% i pokazatelj koji otkriva dodavanje seruma.

Položaj 2: KONJUGAT

Sadržaj: humana monoklonska protutijela anti-IgM: maksimalna koncentracija 1 µg/ml označena peroksidazom, u otopini fosfatnog pufera koja sadrži 0,05 % fenola i 0,02 % Bronidoxa.

Položaj 1: PRAZNA JAMICA gdje korisnik razdjeljuje nerazrijeđeni serum.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,175 mL

Sadržaj: Razrijeđen ljudski serum, u poznatoj koncentraciji protutijela s Proclinom 0.2% i Gentamicinom 0.05% , tekući, spreman za uporabu.

CONTROL + POZITIVNA KONTROLA 1 x 0,425 mL

Sadržaj: Razrijeđen ljudski serum, u poznatoj koncentraciji protutijela s Proclinom 0.2% i Gentamicinom 0.05% tekući, spreman za uporabu.

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

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

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 RAZRJEDIVAČ UZORKA **REF** 83607
- Destilirana ili deionizirana voda
- Normalna laboratorijska staklena oprema: cilindri, epruvete itd.
- Mikro pipete u stanju točno preuzeti volumene od 50-200 µl
- Jednokratne rukavice
- 5% otopina natrijevog hipoklorita
- Spremnici za prikupljanje potencijalno zaraženih materijala

6. NAČIN ČUVANJA I STABILNOST REAGENSA

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

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

Reagensi imaju ograničenu stabilnost nakon otvaranja i/ili pripreme:

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

7. VRSTA UZORKA I ČUVANJE

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

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

Svježi serum se može čuvati 4 dana na 2/8 °C; za dulja razdoblja čuvanja zamrznuti na temperaturi ≤ -20 °C ne dulje od 47 mjeseci. Izbjegavajte uporabu zamrzivača koji se sami odmrzavaju za čuvanje uzoraka. Uzorak može proći do najviše 3 odmrzavanja. Nakon odmrzavanja pažljivo protresite prije doziranja. Na kvalitetu uzorka može ozbiljno utjecati mikrobna kontaminacija koja može dovesti do netočnih rezultata.

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

Test nije primjenjiv na ljudsku plazmu.

8. POSTUPAK

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

9. VALIDACIJA TESTA

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

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

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

10. TUMAČENJE TESTA

Instrument daje rezultat u Indeksu (OD uzorak/OD cut-off).

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

POZITIVAN: kada je rezultat $> 1,1$

NEGATIVAN: kada je rezultat $< 0,9$

SUMNJIV/DVOSMISLEN: kada je rezultat između 0,9 i 1,1

U slučaju dvojbenog/dvosmislenog rezultata ponovite test. Ako rezultat ostane upitan/dvosmislen, ponovite vađenje.

11. OGRANIČENJA POSTUPKA

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

Moguće je da uzorci uzeti u ranoj fazi infekcije možda još nisu razvili protutijela u dovoljnim količinama za otkrivanje; u slučaju sumnjivog 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.

12. ANALITIČKA SPECIFIČNOST

Prisutnost u uzorku potencijalnih ometajućih sredstava u serumu kao što su:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Epstein Barr virus (n=6)
- Cytomegalovirus (n=10)
- Reumatoidni faktor (n=7)
- Hemoliza (n=5)

ne mijenja rezultat testa.

13. KOMPARATIVNE STUDIJE

Analizirana su 73 uzorka. Sumnjivi rezultati dobiveni s oba kompleta smatrani su pozitivnima. Komplet Diesse dao je 4 lažno pozitivna i 1 lažno negativan.

Rezultati su sažeti u donjoj tablici.

Tablica 1.

		Referenca		Ukupno
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
Ukupno		19	54	73

Osjetljivost 94.7 % $CI_{95\%}$: 75.4 do 99.1

Specifičnost 92.6 % $CI_{95\%}$: 82.4 do 97.1

Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) 81.8 % $CI_{95\%}$: 72.9 – 90.7

Negativna prediktivna vrijednost (NPV) 98.0 % $CI_{95\%}$: 94.8– 100.0

14. PRECIZNOST I PONOVLJIVOST

funkcionalna), dio je tehničke dokumentacije i može se zatražiti od proizvođača.

Tablica 2. Preciznost unutar sesije

	Broj ponavljanja	Prosječni indeks	DS	CV%
Proizvodna serija 505	9	2.5	0.29	11.6
Proizvodna serija 506	9	2.1	0.27	12.9
Proizvodna serija 509	8	1.9	0.23	12.1

Tablica 3. Preciznost između sesija i serija

Uzorak	Prosječni indeks			Prosje k	DS	CV%
	Proizv odna serija 505	Proizv odna serija 506	Proizv odna serija 509			
MYM 1	0.5	0.5	0.4	0.5	0.06	12.0
MYM 2	1.1	1.0	1.1	1.1	0.06	5.5
MYM 3	2.9	2.1	2.4	2.5	0.40	16.0

15. BIBLIOGRAFIJA

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

16. 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.

17. SAŽETAK O SIGURNOSTI I UČINKOVITOSTI

Ovaj dokument, koji će biti dostupan u bazi podataka EUDAMED (kada bude u potpunosti implementirana i



INSTRUKCJA UŻYCIA

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgM

Tylko do diagnostyki *in vitro*

1. ZAMIERZONE ZASTOSOWANIE

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) to zestaw immunologiczny do automatycznego jakościowego oznaczania przeciwciał IgM przeciwko Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym wywołującym pozaszpitalne zapalenie płuc. IgM występuje najczęściej w zakażeniu pierwotnym, dlatego zestaw jest stosowany jako pomoc w diagnozowaniu zakażenia zapaleniem płuc.

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

2. WPROWADZENIE

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

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

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

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

Swoiste przeciwciała klasy A pojawiają się wcześnie, na początku choroby i osiągają wysokie miano w ciągu pierwszych 4 tygodni, po czym gwałtownie zanikają przed IgG, co pozwala na rozpoznanie ostrego zakażenia nawet na

podstawie jednej próbki krwi. IgG pojawia się po IgM i IgA, średnio osiągając szczyt w 5 tygodniu. Wysokie miano, któremu towarzyszy znaczny wzrost między dwoma pobraniami próbek w odstępie około dwóch tygodni, potwierdza obecność trwającego zakażenia.

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

3. ZASADA METODY

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

Antygen, składający się z ekstraktu inaktywowanej Mycoplasma pneumoniae, wiąże się z fazą stałą. Poprzez inkubację badanej surowicy ludzkiej rozcieńczonej w rozcieńczalniku blokującym IgG, swoiste IgM wiążą się z antygenem.

Po płukaniu w celu usunięcia nieprzereagowanych białek przeprowadza się inkubację z koniugatem składającym się z przeciwciał monoklonalnych przeciwko ludzkim IgG znakowanych peroksydazą chrzanową.

Niezwiązany koniugat jest usuwany i dodawany jest substrat do peroksydazy.

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

Jednorazowe wyroby zawierają wszystkie odczynniki do wykonania testu.

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

WYŁĄCZNIE DO UŻYTKU W DIAGNOSTYCE IN VITRO.

Uwaga:

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

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

Ostrzeżenia dotyczące bezpieczeństwa osobistego

1. Nie należy pipetować ustami.
2. Podczas pracy z próbkami należy używać jednorazowych rękawic i ochrony oczu.
3. Po włożeniu wyrobu do aparatu 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%. Narażenie na działanie 1% podchlorynu sodu przez 30 minut jest zwykle wystarczające do zapewnienia skutecznej dezynfekcji.
6. Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją pracy wyczyścić, np. 1% podchlorynem sodu. W przypadku obecności kwasu, podchloryn sodu nie może być stosowany do czasu osuszenia obszaru.
Wszystkie materiały użyte do usuwania przypadkowych wycieków, w tym rękawice, muszą być wyrzucone jako odpady potencjalnie zakażne. Nie należy poddawać autoklawowaniu materiałów zawierających podchloryn sodu.

Ostrzeżenia analityczne

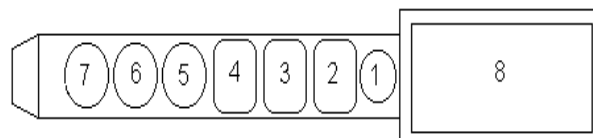
Przed użyciem należy doprowadzić wyroby medyczne przeznaczone do użycia do temperatury pokojowej (18-30°C) na co najmniej 30 minut i zużyć w ciągu 60 minut.

1. **Wyrzucić wyroby z substratem (studzienka 4) zabarwionym na niebiesko.**
2. Podczas dodawania próbki do studzienki należy sprawdzić, czy jest ona idealnie rozprowadzona na dnie.
3. Sprawdzić rzeczywistą obecność odczynników w wyrobie oraz stan samego wyrobu, nie używać wyrobów, które przy oględzinach wykazują brak jakiegось odczynnika.
4. Wyroby muszą być używane w połączeniu z aparatem CHORUS/CHORUS TRIO, ściśle przestrzegając instrukcji użycia oraz podręcznika aparatu.
5. Sprawdzić, czy aparat jest ustawiony prawidłowo (patrz Instrukcja obsługi).
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 Washing Buffer (Odn. 83606)**

5. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Zestaw wystarcza na wykonanie 36 oznaczeń.

DD WYROBY 6 opakowań po 6 wyrobów w każdym
Sposób użycia: **doprowadzić kopertę do temperatury pokojowej**, otworzyć kopertę, wyjąć wymagane urządzenia; pozostałe umieścić w kopercie zawierającej żel krzemionkowy, wypuścić powietrze i **zakleić**, naciskając na zamknięcie. Przechowywać w temperaturze 2/8°C.



Opis:

Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: NIEUŻYWANY

Pozycja 6: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ uczulona na antygen *Mycoplasma pneumoniae*: maksymalne stężenie 2,45 µg/ml

Pozycja 5: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

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

Pozycja 3: ROZCIĘNCZALNIK DO PRÓBEK

Zawartość: Roztwór białka zawierający ludzkie anti-IgG, fenol 0,05%, Bronidox 0,02% i wskaźnik ujawniający dodanie surowicy.

Pozycja 2: SKONIUGOWANY

Zawartość: znakowane peroksydazą monoklonalne przeciwciała przeciwko IgM, maksymalne stężenie 1 µg/ml, w roztworze buforowanym fosforanem zawierającym 0.05% fenol i 0.02% Bronidox.

Pozycja 1: PUSTA STUDZIENKA, gdzie użytkownik dozuje nierozcieńczone serum.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,175 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka, znane stężenie przeciwciał z Proclinem 0.2% i Gentamycyną, 0.05% płynna, gotowa do użycia.

CONTROL + KONTROLA DODATNIA 1 x 0,425 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka, znane stężenie przeciwciał z Proclinem 0.2% i Gentamycyną, 0.05% płynna, gotowa do użycia.

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

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

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

INNE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE MATERIAŁY:

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

- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT ODN 83607
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Zwykłe szkło laboratoryjne: cylindry, probówki itp.
- Mikropipety umożliwiające dokładne pobieranie objętości 50-200 µl
- Rękawice jednorazowe
- 5% roztwór podchlorynu sodu
- Pojemniki do zbierania potencjalnie zakażonych materiałów

6. PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW

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

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

Odczynniki mają ograniczoną stabilność po otwarciu i/lub przygotowaniu:

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

7. RODZAJ PRÓBK I JEJ PRZECHOWYWANIE

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

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

Świeżą surowicę można przechowywać przez 4 dni w temperaturze 2/8°C; w przypadku dłuższego przechowywania należy ją zamrozić w temperaturze ≤ -20°C na okres nieprzekraczający 47 miesięcy. Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek. Probka może być poddana maksymalnie 3 rozmrożeniom. Po rozmrożeniu, przed dozowaniem dokładnie wstrząsnąć. Na jakość próbki może mieć poważny wpływ zanieczyszczenie mikrobiologiczne, które może prowadzić do błędnych wyników.

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

Badanie nie ma zastosowania do ludzkiego osocza.

8. PROCEDURA

1. Otworzyć kopertę (strona zawierająca zamknięcie zaciskowe), wziąć wyroby potrzebne do wykonania badań, a pozostałe zachować, zamykając ponownie kopertę po wypuszczeniu powietrza.
2. Wzrokowo sprawdzić stan wyrobu zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale 6 Ostrzeżenia analityczne, punkty 1 i 8.

3. Wprowadzić 50 µl nierozcieńczonej surowicy do analizy do studzienki nr 1 każdego wyrobu; przy każdej zmianie partii użyć wyrobu kalibrującego.
4. Umieścić wyrób na aparacie CHORUS/CHORUS TRIO. Przeprowadzić kalibrację (jeśli jest wymagana) i test zgodnie z Instrukcją obsługi aparatu.

9. WALIDACJA BADANIA

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

Jeśli wynik surowicy kontrolnej nadal znajduje się poza dopuszczalnym zakresem, należy skontaktować się z obsługą klienta

Tel.: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETACJA BADANIA

Aparat podaje wynik w Index (OD próbki/OD cut-off).

Badanie na surowicy można zinterpretować w następujący sposób:

DODATNI: gdy wynik jest > 1,1

UJEMNY: gdy wynik jest < 0,9

WĄTPLIWY/NIEJEDNOZNACZNY: gdy wynik jest pomiędzy 0,9 a 1,1

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

11. OGRANICZENIA PROCEDURY

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

Możliwe jest, że w próbkach pobranych we wczesnym stadium zakażenia nie wytworzyły się jeszcze przeciwciała w ilości wystarczającej do wykrycia; w przypadku wątpliwości m wskazane jest powtórzenie próbki 2-3 tygodnie później i wykonanie nowej analizy.

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

12. SWOISTOŚĆ ANALITYCZNA

Obecność w próbce surowicy potencjalnych czynników zakłócających, takich jak:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Wirus Epsteina Barra (n=6)
- Cytomegalowirus (n=10)
- Czynnik reumatoidalny (n=7)
- Hemoliza (n=5)

nie zmienia wyniku testu.

13. BADANIA PORÓWNAWCZE

Analizie poddano 73 próbki. Wątpliwe wyniki uzyskane za pomocą obu zestawów zostały uznane za dodatnie. Zestaw Diesse dał 4 fałszywie dodatnie i 1 fałszywie ujemny wynik. Wyniki zostały podsumowane w poniższej tabeli.

Tabela 1.

Diesse		Odnosnik		Razem
		+	-	
	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Razem	19	54	73

Czułość	94.7	%	CI _{95%} : 75,4 do 99,1
Swoistość	92.6	%	CI _{95%} : 82,4 do 97,1
Dodatnia wartość predykcyjna (PPV):	81.8	%	CI _{95%} : 72.9 – 90.7
Ujemna wartość predykcyjna (NPV):	98.0	%	CI _{95%} : 94.8– 100.0

14. PRECYZJA I POWTARZALNOŚĆ**Tabela 2. Precyzja w ramach sesji**

	Liczba powtórzeń	Media Index	DS	CV%
Partia 505	9	2.5	0.29	11.6
Partia 506	9	2.1	0.27	12.9
Partia 509	8	1.9	0.23	12.1

Tabela 3. Precyzja między sesjami i między partiami

Próbka	Media Index			Średni a	DS	CV%
	Partia 505	Partia 506	Partia 509			
MYM 1	0.5	0.5	0.4	0.5	0.06	12.0
MYM 2	1.1	1.0	1.1	1.1	0.06	5.5
MYM 3	2.9	2.1	2.4	2.5	0.40	16.0

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. G. Layh-Schmitt: Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology (2000), 146, 741-747
3. S.Rotten : Interaction of Mycoplasma With Host Cells..Physiol.Rev.83:417-432,2003
4. J.Petitjean: Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma

pneumoniae Infections. J.Clin.Microbiol. 2002 40:165-171

5. E.Jacobs : Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol.Chem Vol.369, pp.1295-1299, December 1988.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

16. 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.

17. 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.



NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgM

Skirta tik diagnostiniam naudojimui *in vitro*

1. NAUDOJIMO PASKIRTIS

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) yra imunologinis rinkinys, skirtas kiekybiniam automatiniam IgM antikūnų prieš Mycoplasma Pneumoniae nustatymui.

Mycoplasma Pneumoniae yra dažniausias etiologinis sukėlėjas, sukeliantis pneumoniją, užsikrečiant bendro naudojimo patalpose. IgM dažniausiai aptinkamas pirminės infekcijos metu, todėl rinkinys naudojamas kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant pneumonijos infekciją.

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

2. IVADAS

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

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

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

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

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

Antigenas, naudojamas serologiniam specifinio IgA nustatymui, gaunamas iš M. pneumoniae membranos

ekstrakto, kuriame yra didelis kiekis citodezino P1, kuris yra imunodominantinis antigenas ir atitinka transmembraninį baltymą, pirmojoje infekcijos fazėje daugiausia atsakingą už M. pneumoniae citodezino prilipimą prie šeimininko kvėpavimo takų epitelio.

3. METODO PRINCIPAS

Tyrimas pagrįstas netiesioginiu ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) metodu

Antigenas, kurį sudaro inaktyvuotos Mycoplasma pneumoniae ekstraktas, prijungiamas prie kietosios fazės. Inkubuojant tiriamąjį žmogaus serumą, praskiestą IgG blokuojančiu skiedikliu, specifiniai IgM prisijungia prie antigeno.

Po plovimo norint pašalinti nesureagavusius baltymus, inkubuojama su konjugatu, sudarytu iš monokloninių žmogaus IgM antikūnų, konjuguotų su krienų peroksidaze.

Neprisijungęs konjugatas pašalinamas ir pridodama peroksidazės substrato.

Išsiskirianti mėlyna spalva yra proporcinga specifinių antikūnų koncentracijai tiriamajame serume.

Vienkartinėse priemonėse yra visi reagentai, reikalingi tyrimui atlikti.

4. ATSARGUMO PRIEMONĖS

TIK IN VITRO DIAGNOSTIKAI.

Dėmesio:

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

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

Asmeninės saugos įspėjimai

1. Pipete nelašinkite į burną.
2. Dirbdami su mėginiais mūvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite akių apsaugos priemones.
3. Kruopščiai nusiplaukite rankas po to, kai įdėjote priemones į „instrumentą“.
4. Rinkinyje esančių reagentų saugos charakteristikų ieškokite saugos duomenų lapuose (pateikiama DIESSE svetainėje: www.diesse.it).
5. Neutralizuotos rūgštys ir kitos skystos atliekos turi būti dezinfekuojamos įpilant natrio hipochlorito tiek, kad galutinė koncentracija būtų ne mažesnė, kaip 1 %. Veiksmingai dezinfekcijai užtikrinti paprastai užtenka 1 % natrio hipochlorito poveikio 30 minučių.
6. Bet koks galimai užkrėstų medžiagų išsiliejimas turi būti nedelsiant pašalintas sugeriamuoju popieriumi, o prieš tęsiant darbą, užteršta vieta turi būti išvalyta, pvz., 1 % natrio hipochloritu. Jei yra rūgštis, natrio hipochlorito negalima naudoti tol, kol vieta neišdžiovinata.

Visos medžiagos, naudojamos atsitiktiniams išsiliejimams išvalyti, įskaitant pirštines, turi būti išmetamos kaip potencialiai užkrečiamos atliekos. Negalima autoklavuoti medžiagų, kurių sudėtyje yra natrio hipochlorito.

Analitiniai įspėjimai

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

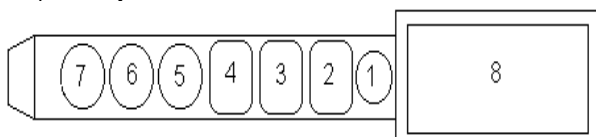
1. Išmeskite prietaisus, kurių substratas (4 duobutė) nuspalvintas mėlyna spalva.
2. Įpilkite mėginį į duobutę ir patikrinkite, ar jis puikiai pasiskirstė ant dugno.
3. Patikrinkite, ar priemonėje iš tikrųjų yra reagentų, ir pačios priemonės sveikumą, nenaudokite prietaisų, kuriuose, vizualiai patikrinus, trūksta tam tikro reagento.
4. Prietaisai turi būti naudojami kartu su „Chorus“ / „Chorus TRIO“ instrumentu, griežtai laikantis instrumento naudojimo instrukcijų ir vadovo.
5. Patikrinkite, ar teisingai nustatytas instrumentas (žr. „naudojimo vadovą“).
6. Nekeiskite ant prietaiso rankenos esančio brūkšninio kodo, kad prietaisas jį teisingai nuskaitytų.
7. Mėginiams laikyti nenaudokite automatiškai atitirpstančių šaldiklių.
8. Defektinius brūkšninius kodus į prietaisą galima įvesti rankiniu būdu.
9. Laikydami ir naudodami priemones, saugokite jas nuo stipraus apšvietimo ir hipochlorito garų.
10. Nenaudokite hemolizuotų, lipeminių, ikterinių mėginių, kuriuose interferentų koncentracija yra didesnė nei tiriamoji (pagal skyriuje „Analizės specifiškumas“ pateiktus nurodymus).
11. Nenaudokite priemonės pasibaigus galiojimo laikui
12. Patikrinkite, ar instrumentas turi jungtį su „Washing Buffer“ (plovimo buferiniu tirpalu) (Ref. 83606)

5. RINKINIO SUDĖTIS IR REAGENTŲ PARUOŠIMAS

Rinkinio pakanka 36 tyrimams atlikti.

DD PRIEMONĖS 6 pakuotės po 6 priemones kiekvienoje

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



Aprašymas:

8 pozicija: Etiketei su brūkšninio kodo skirta vieta

7 pozicija: NENAUDOJAMA

6 pozicija: MIKROPLOKŠTELĖS DUOBUTĖ, jautri *Mycoplasma pneumoniae* antigenams: didžiausia koncentracija 2,45 µg/ml

5 pozicija: MIKROPLOKŠTELĖS DUOBUTĖ nejautri.

4 pozicija: TMB SUBSTRATAS

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

3 pozicija: SKIEDIKLIS MĖGINIAMS

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

2 pozicija: KONJUGATAS

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

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

CALIBRATOR KALIBRATORIUS 1 x 0,175 mL

Turinys: Praskiestas žmogaus serumas, žinoma antikūnų koncentracija su proklinu 0.2% ir gentamicinu 0.05%, skystas, paruoštas naudoti.

CONTROL + TEIGIAMAS KONTROLINIS SERUMAS 1 x 0,425 ml

Turinys: Praskiestas žmogaus serumas, žinoma antikūnų koncentracija su proklinu 0.2% ir gentamicinu 0.05%, skystas, paruoštas naudoti.

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

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

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

KITA REIKALINGA, BET NETIEKIAMA MEDŽIAGA

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

6. REAGENTŲ LAIKYMAS IR STABILUMAS

Reagentai turi būti laikomi 2/8 °C temperatūroje. Neteisingos laikymo temperatūros atveju kalibravimas turi būti pakartotas, o rezultatų teisingumas patikrintas

naudojant kontrolinį serumą (žr. 9 skyrių „Tyrimo patvirtinimas“).

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

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

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

7. MĖGINIO TIPAS IR LAIKYMAS

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

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

Šviežus serumas gali būti laikomas 4 dienas 2/8 °C temperatūroje; jei norite jį laikyti ilgiau, užšaldykite ≤ -20 °C temperatūroje ne ilgesniam, kaip 47 mėnesių laikotarpiui. Mėginiams laikyti nenaudokite automatiškai atitirpstančių šaldiklių. Mėginys gali būti atšildytas ne daugiau, kaip 3 kartus. Atšildytą preparatą kruopščiai suplakite prieš dozuodami. Mėginio kokybei didelę įtaką gali turėti mikrobinė tarša, dėl kurios rezultatai gali būti klaidingi.

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

Tyrimas netaikomas žmogaus plazmai.

8. PROCEDŪRA

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

9. TYRIMO PATVIRTINIMAS

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

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

Tel.: 0039 0577 319554

el. paštas: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. TYRIMO AIŠKINIMAS

Instrumentas pateikia rezultatą indekse (mėginio optinis tankis / optinio tankio „cut-off“).

Tiriamo serumo tyrimą galima aiškinti taip:

TEIGIAMAS: kai rezultatas $> 1,1$

NEIGIAMAS: kai rezultatas yra $< 0,9$

ABEJOTINAS/NEAIŠKUS: kai rezultatas yra nuo 0,9 iki 1,1

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

11. PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

Rezultatai visada turi būti aiškinami kartu su kitais klinikinio įvertinimo ir kitų diagnostinių tyrimų duomenimis.

Gali būti, kad ankstyvoje infekcijos stadijoje paimtuose mėginiuose antikūnai dar nėra susiformavę tiek, kad juos būtų galima aptikti; kilus abejonių, rekomenduojama mėginį pakartoti po 2–3 savaičių ir atlikti naują tyrimą.

Prieš naudojant lipeminius arba drumstus mėginius, rekomenduojama juos centrifuguoti arba filtruoti.

12. ANALITINIS SPECIFIŠKUMAS

Serumo mėginyje yra galimų trukdžių, pvz:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Epšteino-Baro virusas (n=6)
- Citomegalovirusas (n=10)
- Reumatoidinis faktorius (n=7)
- Hemolizė (n=5)

nekeičia tyrimo rezultatų.

13. LYGINAMIEJI TYRIMAI

Buvo ištirti 73 mėginiai. Abejotini rezultatai, gauti su abiem rinkiniais, buvo laikomi teigiamais. „Diesse“ rinkinio rezultatuose buvo 4 klaidingai teigiami ir 1 klaidingai neigiamas rezultatas.

Rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

1 lentelė.

		Nuoroda		Iš viso
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Iš viso	19	54	73

Jautrumas	94,7	%	CI ₉₅ %: nuo 75,4 iki 99,1
Specifiškumas	92,6	%	CI ₉₅ %: nuo 82,4 iki 97,1
Teigiama prognostinė vertė (PPV):	81,8	%	CI ₉₅ %: 72,9 – 90,7
Neigiama prognostinė vertė (NPV):	98,0	%	CI ₉₅ %: 94,8– 100,0

14. TIKSLUMAS IR PAKARTOJAMUMAS

2 lentelė. Tikslumas sesijos vietoje

	Pakartojimų skaičius	Vidutinis indeksas	St. nuokr.	CV%
Partija 505	9	2,5	0,29	11,6
Partija 506	9	2,1	0,27	12,9
Partija 509	8	1,9	0,23	12,1

3 lentelė. Tikslumas tarp sesijų ir partijų

Pavyzdys	Vidutinis indeksas			Viduti nis	St. nu okr.	CV%
	Partija 505	Partija 506	Partija 509			
MYM 1	0,5	0,5	0,4	0,5	0,06	12,0
MYM 2	1,1	1,0	1,1	1,1	0,06	5,5
MYM 3	2,9	2,1	2,4	2,5	0,40	16,0

15. BIBLIOGRAFIJA

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

16. PRANEŠIMAS APIE INCIDENTUS

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

17. SAUGOS IR VEIKLOS REZULTATŲ SUVESTINĖ

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



ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

CHORUS MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgM

Само за диагностична употреба *in vitro*

1. ПРЕДНАЗНАЧЕНО ИЗПОЛЗВАНЕ

CHORUS Mycoplasma Pneumoniae IgM (REF 81035) е имунологичен комплект за автоматизирано качествено определяне на IgM антитела срещу Mycoplasma Pneumoniae.

Mycoplasma Pneumoniae е най-честият етиологичен агент, причиняващ извънболнична пневмония. IgM се открива най-често при първична инфекция, поради което комплектът се използва като помощно средство при диагностицирането на инфекция с пневмония.

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

2. ВЪВЕДЕНИЕ

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

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

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

Специфичните антитела от клас A се появяват рано, в началото на заболяването, и достигат високи титри през първите 4 седмици, след което рязко намаляват преди IgG, което позволява диагностицирането на острата

инфекция дори с една кръвна проба. IgG се появява след IgM и IgA, като средно достига своя връх през 5-ата седмица. Високият титър, придружен от значително увеличение между две проби с интервал от около две седмици, потвърждава наличието на продължаваща инфекция.

Антигенът, използван за серологичното определяне на специфичния IgM, 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 в първата фаза на инфекцията.

3. ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Тестът се основава на непрекия метод ELISA (ензимно свързан имуносорбентен анализ) непряк

Антигенът, състоящ се от екстракт от инактивирана Mycoplasma pneumoniae, е свързан с твърдата фаза. Чрез инкубиране на тестовия човешки серум, разреден в разрестител, блокиращ IgG, специфичният IgM се свързва с антигена.

След промиване за отстраняване на нереагиралите протеини се извършва инкубация с конюгат, състоящ се от моноклонални анти-човешки IgM 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.

4. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

САМО ЗА ИН ВИТРО ДИАГНОСТИКА.

Внимание:

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

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

Предупреждения за лична безопасност

1. Не пипетирайте с уста.
2. Използвайте ръкавици за еднократна употреба и защита на очите при работа с пробите.

3. Измийте добре ръцете си, след като поставите устройствата в уреда
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 обикновено е достатъчно, за да се осигури ефективна дезинфекция.
6. Всеки разлив на потенциално заразени материали трябва да се отстрани незабавно с абсорбираща хартия и замърсената зона трябва да се почисти, например с 1% натриев хипохлорит, преди да се продължи работата. Ако има киселина, натриевият хипохлорит не трябва да се използва, докато зоната не бъде изсушена.
Всички материали, използвани за почистване на случайни разливи, включително ръкавици, трябва да се изхвърлят като потенциално инфекциозни отпадъци. Не използвайте автоклав за материали, съдържащи натриев хипохлорит.

Аналитични предупреждения

Преди употреба 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 изделията със субстрат (ямка 4), оцветен в синьо**
2. Когато добавяте пробата в ямката, проверете дали тя е напълно разпределена на дъното.
3. Проверявайте действителното наличие на реагентите в устройството и целостта на самото устройство, не използвайте устройства, които показват липса на някои реагенти при визуална проверка.
4. Устройствата трябва да се използват заедно с инструмента CHORUS/CHORUS TRIO, като се спазва стриктно Ръководството за инструмента и инструкциите за употреба.
5. Проверете дали инструментът е настроен правилно (вж. Ръководството за потребителя).
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

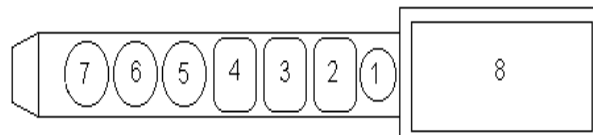
12. Проверете дали инструментът има връзка към буфера за промиване (вж. 83606)

5. СЪСТАВ НА КОМПЛЕКТА И ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТ

Комплектът е достатъчен за 36 определяния.

DD УСТРОЙСТВА 6 опаковки с по 6 устройства

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.



Описание:

Позиция 8: Свободно място за етикет с баркод

Позиция 7: НЕ СЕ ИЗПОЛЗВА

Позиция 6: ЯМКА ЗА МИКРОПЛАКА, сенсibiliзирана с антигени на *Mycoplasma pneumoniae*: максимална концентрация 2.45 µg/ml

Позиция 5: ЯМКА ЗА МИКРОПЛАКА не е сенсibiliзиран.

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 анти-човешки IgG, фенол 0,05%, Bronidox 0,02% и индикатор, който да покаже добавянето на серум.

Позиция 2: КОНЮГАТ

Съдържание: човешки моноклонални IgM антитела максимална концентрация 1 µg/ml, маркирани с пероксидаза, във фосфатен буферен разтвор, съдържащ фенол 0,05% и Бронидокс 0,02%.

Позиция 1: ПРАЗЕН РЕЗЕРВОАР, в който потребителят дозира неразредения серум.

КАЛИБРАТОР КАЛИБРАТОР 1 x 0.175 mL

Съдържание: Разреден човешки серум, известна концентрация на антитела с проклин 0.2% и гентамицин 0.05%, течен, готов за употреба.

КОНТРОЛА + ПОЛОЖИТЕЛНА КОНТРОЛА 1 x 0.425 mL

Съдържание: Разреден човешки серум, известна концентрация на антитела с проклин 0.2% и гентамицин 0.05%, 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, разреждана 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
- Дестилирана или дейонизирана вода
- Обикновена лабораторна стъклария: цилиндри, епруветки и др.
- Микропипети с възможност за точно вземане на обеми от 50-200 µl
- Ръкавици за еднократна употреба
- 5% разтвор на натриев хипохлорит
- Контейнери за събиране на потенциално заразени материали

6. СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАКТИВИТЕ

Реагентите трябва да се съхраняват при температура 2/8°C. В случай на неправилна температура на съхранение калибрирането трябва да се повтори и да се провери правилността на резултата с помощта на контролен серум (вж. глава 9 валидиране на теста). Срокът на годност е отпечатан върху всеки компонент и върху етикета на външната опаковка.

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

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

7. ВИД НА ПРОБАТА И СЪХРАНЕНИЕ

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

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

Пресният серум може да се съхранява в продължение на 4 дни при 2/8°C; за по-дълъг период на съхранение замразете при температури ≤ -20°C за период не по-дълъг от 47 месеца. Избягвайте използването на саморазмразяващи се фризери за съхранение на проби. Пробата може да бъде подложена на максимум 3 размразявания. След размразяването разклатете внимателно преди дозиране. Качеството на пробата може

да бъде сериозно засегнато от микробно замърсяване, което може да доведе до грешни резултати.

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

Тестът не е приложим за човешка плазма.

8. ПРОЦЕДУРА

1. Отворете плика (страната, съдържаща уплътнението под налягане), вземете необходимия брой устройства за извършване на изследванията и запазете останалите, като затворите плика отново, след като изпуснете въздуха.
2. Визуално проверете състоянието на устройството съгласно инструкциите в глава 6 Аналитични предупреждения, точки 1 и 8.
3. Дозирайте 50 µl от неразредения серум, който ще се анализира, в ямка № 1 на всяко изделие, като при всяка смяна на партидата използвате калибраторно изделие.
4. Въведете устройствата на инструмента CHORUS/CHORUS TRIO. Извършете калибриране (ако е необходимо) и тест, както е описано в ръководството за употреба на инструмента.

9. ВАЛИДИРАНЕ НА ТЕСТА

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

Ако резултатът от контролния серум продължава да е извън допустимия диапазон, свържете се с отдела за обслужване на клиенти.

Тел: 0039 0577 319554

имейл: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. ТЪЛКУВАНЕ НА ТЕСТА

Инструментът предоставя резултата в индекс (OD проба/OD отсечка).

Тестът на тестовия серум може да се интерпретира по следния начин:

ПОЛОЖИТЕЛЕН: когато резултатът е > 1,1

НЕГАТИВЕН: когато резултатът е < 0,9

СЪМНИТЕЛЕН/НЕЕДНОЗНАЧЕН: когато резултатът е между 0,9 и 1,1

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

11. ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

Резултатите винаги трябва да се тълкуват заедно с другите данни от клиничната оценка и другите диагностични изследвания.

Възможно е пробите, взети на ранен етап от инфекцията, все още да не са развили антитела в достатъчно количество, за да бъдат открити; в случай на съмнение е препоръчително да се повтори пробата 2-3 седмици по-късно и да се направи нов анализ.

Препоръчва се центрофугиране или филтриране, преди да се използват липаемични или мътни проби.

12. АНАЛИТИЧНА СПЕЦИФИЧНОСТ

Наличието в серумната проба на потенциални интерференти, като например:

- Chlamydia trachomatis (n=4)
- Chlamydia pneumoniae (n=15)
- Вирус на Епщайн Бар (n=6)
- Цитомегаловирус (n=10)
- Ревматоиден фактор (n=7)
- Хемолиза (n=5)

не променя резултата от теста.

13. СРАВНИТЕЛНИ ПРОУЧВАНИЯ

Анализирани са 73 проби. Съмнителните резултати, получени и с двата комплекта, се считат за положителни. Комплектът на Diesse даде 4 фалшиво положителни и 1 фалшиво отрицателен резултат.

Резултатите са обобщени в таблицата по-долу.

Таблица 1.

		Справка		Общо
		+	-	
Diesse	+	18	4	22
	-	1	50	51
	Общо	19	54	73

Чувствителност	94.7	%	CI _{95%} : 75,4 до 99,1
Специфичност	92.6	%	CI _{95%} : 82,4 до 97,1
Положителна прогнозна стойност (PPV):	81.8	%	CI _{95%} : 72.9 – 90.7
Отрицателна прогнозна стойност (NPV)	98.0	%	CI _{95%} : 94.8– 100.0

14. ПРЕЦИЗНОСТ И ПОВТОРЯЕМОСТ

Таблица 2. Прецизност в рамките на сесията

	Брой повторения	Среден Индекс	DS	CV%
Партида 505	9	2.5	0.29	11.6
Партида 506	9	2.1	0.27	12.9
Партида 509	8	1.9	0.23	12.1

Таблица 3. Прецизност между сесиите и между партидите

Проба	Среден Индекс			Среден	DS	CV%
	Парти да 505	Парти да 506	Парти да 509			
МУМ 1	0.5	0.5	0.4	0.5	0.06	12.0
МУМ 2	1.1	1.0	1.1	1.1	0.06	5.5
МУМ 3	2.9	2.1	2.4	2.5	0.40	16.0

15. 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

16. 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.

17. 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 IgM

Ainult *in vitro* diagnostikaks

1. KAVANDATUD KASUTUSALA

CHORUS *Mycoplasma pneumoniae* IgM (REF 81035) on immuunanalüüsi komplekt *Mycoplasma pneumoniae* vastaste IgM tüüpi antikehade automaatseks poolkvantitatiivseks määramiseks.

Mycoplasma pneumoniae on kogukonnas tekkinud kopsupõletiku levinuim etioloogiline tegur. IgM tüüpi antikehad on sagedamad esmaste nakkuste korral; 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 kõige levinum 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. *Mycoplasma* põhjustatud kopsupõletikku nimetatakse veel ebatüüpiliseks esmaseks kopsupõletikuks ja ingliskeelsetes allikates ka Eatoni kopsupõletikuks (*Eaton's pneumonia*).

Mycoplasma pneumoniae ründab ja hävitab hingamisteede limaskestast ripsepiteeli rakke. Interstitsiaalset 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: IgM tüüpi antikehad on sagedamad esmaste nakkuste korral, nagu näitab nende esinemine noorematel patsientidel. IgM sisaldus on väike või puudub vanematel patsientidel, kellel on suurem tõenäosus taasnakatamiseks. Teisest küljest: IgA on kõige tundlikum marker käimasoleva nakkuse, taasnakatamise või hiljutise nakkuse tuvastamiseks.

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

sisaldus saavutatakse tavaliselt 5. nädalal. Suur sisaldus ja selle märkimisväärne kasv kahe umbes kahe nädalase vahega võetud proovi põhjal kinnitab käimasolevat nakkust.

Spetsiifiliste IgM tüüpi antikehade seroloogiliseks määramiseks kasutatav antigeen on saadud *M. pneumoniae* membraani ekstraktist, mis sisaldab märkimisväärses koguses P1 tsütoadhesiini (immunodominantse antigeeni) molekule. See on transmembraanne valk, mis on peamine osaline *M. pneumoniae* kinnitumisel peremeesorganismi hingamisteede epiteeli rakkudele nakkuse varajases etapis.

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 IgG tüüpi antikehasid blokeerivas lahjendis, nii et spetsiifilised IgM tüüpi antikehad seonduvad antigeeniga.

Pärast pesemist, et eemaldada reageerimata jäänud valgud, toimub inkubeerimine konjugaadiga, mis sisaldab määrõika peroksüdaasiga konjugeeritud monoklonaalseid inimese IgG vastaseid antikehasid.

Seejärel kõrvaldatakse reageerimata jäänud konjugaat ja lisatakse peroksüdaasi substraat. Tekkiva sinise värvuse tugevus on proportsionaalne uuritavas seerumis olevate spetsiifiliste antikehade kontsentratsiooniga.

Ühekordselt kasutatavad seadmed sisaldavad kõiki reaktiive.

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. Peske oma käed põhjalikult pärast seadme asetamist seadmesse..
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.

- Potentsiaalselt nakkusohtlike materjalide lekked tuleb viivitamatult kõrvaldada imava paberrätikuga ja saastunud ala tuleb enne töö jätkamist pühkida 1,0% naatriumhüpokloriti vm vahendiga. Naatriumhüpokloritit ei tohi kasutada happed 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 naatriumhüpokloritit.

Analüütilised ettevaatusabinõud

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

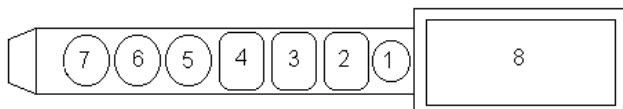
- Ärge kasutage seadmeid, mille substraat (4. kaevuke) on sinise värvusega.**
- Proovi kaevukesse lisades veenduge, et see jaotuks kaevukese põhjas ühtlaselt.
- Kontrollige, et seadmes oleksid kindlasti reagentid olemas ja et seade ei oleks kahjustatud; ärge kasutage seadmeid, millel mõni reagent puudub.
- Seadmed on mõeldud kasutamiseks koos Chorusi aparaadiga; seadme kasutusjuhendit tuleb hoolikalt järgida ja lugeda aparaadi kasutusjuhendit.
- Kontrollige, et aparaat oleks õigesti seadistatud (vt kasutusjuhendit).
- Ärge muutke seadme käepidemel asuvat vöötkoodi, et aparaat saaks seda õigesti lugeda, ja ärge kasutage defektse sildiga seadmeid.
- Ärge säilitage proove isesulatusrežiimiga sügavkülmikutes.
- Defektsed vöötkoodid saab aparaati käsitsi sisestada.
- Ärge laske seadmetel hoiustamise ega kasutamise ajal puutuda kokku tugeva valguse ega hüpokloritiaurudega.
- Ärge kasutage hemolüüsunud, lipeemilisi või ikteerilisi proove, milles segajate kontsentratsioon on suurem kui see, mida on analüüsitud (peatükis „Analüütiline spetsiifilisus“ esitatud näidete kohaselt).
- Ärge kasutage seadet pärast kõlblikkusaja lõppu
- Veenduge, et aparaadi pesupuhvri REF 83606 paak oleks ühendatud.**

5. KOMPLEKTI KOOSTIS JA REAKTIIVIDE VALMISTAMINE

Komplektist piisab 36 analüüsiks.

DD SEADMED koos pakki, millest igaüks sisaldab kuute seadet

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



Kirjeldus:

8. positsioon: koht vöötkoodi sildile

7. positsioon: EI KASUTA

6. positsioon: MIKROPLAADI KAEVUKE, mis on kaetud *Mycoplasma pneumoniae* antigeenidega max kontsentratsioon 2,45 µg/ml

5. positsioon: MIKROPLAADI KAEVUKE (kattekihita)

4. positsioon: TMB SUBSTRAAT

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

3. positsioon: LAHJENDI PROOVIDELE

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

2. positsioon: KONJUGAAT

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

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

KALIBREERIMISLAHUS KALIBREERIMISLAHUS 1 × 0,175 ml

Koostis: inimese lahjendatud seerum, mille antikehade kontsentratsioon on teada ning mis sisaldab prokliini 0.2% ja gentamütsiini 0.05% . **Kasutusvalmis vedelik.**

KONTROLL + POSITIIVNE KONTROLL 1 × 0,425 ml

Koostis: inimese lahjendatud seerum, mille antikehade kontsentratsioon on teada ning mis sisaldab prokliini 0.2% ja gentamütsiini 0.05% . **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
- Destilleeritud või deioniseeritud vesi
- Labori tavapärased klaasanumad: mõõtesilindrid, katseklaasid jne.
- Mikropipetid 50-200 µl lahuse täpseks kogumiseks
- Ühekordselt kasutatavad kindad
- Naatriumhüpokloriti lahus (5%)
- Mahutid potentsiaalselt nakkusohtlikele materjalidele

6. REAKTIIVIDE SÄILITAMINE JA STABIILISUS

Reaktiivid tuleb säilitada temperatuuril 2–8 °C. Ebasobival temperatuuril säilitatud reaktiivide puhul tuleb kalibreerimist korrata ja analüüsisari kontrollseerumiga valideerida (vt 9. punkt, „Katsete valideerimine“). Kõlblikkusaja lõpp on trükitud igale komponendile ja komplekti etiketile.

Reaktiivide stabiilsus pärast avamist ja/või valmistamist on piiratud

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

7. PROOVI TÜÜP JA SÄILITAMINE

Proov koosneb veenist kogutud seerumist, mida käideldakse kõigi heade laboritavadega ette nähtud ettevaatusabinõude kohaselt.

Juhendi CLSI H18-A3 alusel peavad uuritavad seerumiproovid olema enne tsentrifuugimist hüübinud; spontaanne ja täielik hüübimine toimub temperatuuril 22–25 °C tavaliselt 30–60 minuti jooksul.

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

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

Plasmaga pole analüüsi võimalik teha.

8. PROTSEDUUR

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

Tel: 00 3905 7731 9554

E-post: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. TULEMUSTE TÕLGENDAMINE

Aparaat väljendab tulemust indeksina (proovi optiline tihedus /optilise tiheduse *cut-off*).

Uuritud seerumi analüüsi tulemust võib tõlgendada järgmiselt:

POSITIIVNE: kui tulemus on > 1,1

NEGATIIVNE: kui tulemus on < 0,9

EBASELGE / MITMETI TÕLGENDATAV: kõigi väärtuste puhul vahemikus 0,9–1,1

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

11. PROTSEDUURI PIIRANGUD

Lõplikuks diagnoosiks tuleb analüüsi tulemusi kasutada koos kliinilisest hindamisest pärineva ja muude diagnostiliste protseduuridega saadud teabega.

Nakkuse varajases etapis kogutud proovides ei pruugi olla tuvastamiseks piisavalt antikehi; kahtluse korral võtke 2–3 nädala pärast uus proov ja korrake analüüsi.

Enne analüüsi on soovitatav lipeemilised või hägused proovid tsentrifuugida või filtreerida.

12. ANALÜÜTILINE SPETSIIFILISUS

Potentsiaalselt segavate ühendite/tegurite esinemine, näiteks

- *Chlamydia trachomatis* (n = 4)
- *Chlamydia pneumoniae* (n = 15)
- Epstein Barri viirus (n = 6)
- Tsütomegaloviirus (n = 10)
- Reumatoidfaktor (n = 7)
- Hemolüüs (n = 5)

ei mõjuta analüüsi tulemust.

13. DIAGNOSTILINE TUNDLIKKUS JA SPETSIIFILISUS

Analüüsiti 73 proovi. Mõlema komplektiga saadud ebaselgeid tulemusi käsitleti positiivsetena. Diesse'i komplekt andis neli valepositiivset ja ühe valenegatiivse tulemuse.

Tulemuste kokkuvõte on esitatud järgmises tabelis

Tabel 1.

		Standardmeetod		Kokku
		+	–	
Diesse	+	18	4	22
	–	1	50	51
	Kokku	19	54	73

Tundlikkus 94,7 % 95% CI: 75,4; 99,1

Spetsiifilisus 92,6 % 95% CI: 82,4; 97,1

Positiivne

ennustusväärtus 81.8 % CI95%: 72.9 – 90.7 (PEV)

Negatiivne

ennustusväärtus 98.0 % CI95%: 94.8– 100.0 (NEV)

17. OHUTUSE JA TOIMIVUSE KOKKUVÕTE

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

14. TÄPSUS JA KORRATAVUS

Tabel 2. Analüüsisarja sisene täpsus

	Korduste arv	Keskmine indeks	Standardhälve	Variatsioonikordaja (%)
Partii nr. 505	9	2,5	0,29	11,6
Partii nr. 506	9	2,1	0,27	12,9
Partii nr. 509	8	1,9	0,23	12,1

Tabel 3. Analüüsisarja ja partii väline täpsus

Proov	Keskmine indeks			Keskmine	Standardhälve	Variatsioonikordaja (%)
	Partii 505	Partii 506	Partii 509	mine		
MYM 1	0,5	0,5	0,4	0,5	0,06	12,0
MYM 2	1,1	1,0	1,1	1,1	0,06	5,5
MYM 3	2,9	2,1	2,4	2,5	0,40	16,0

15. VIITED

1. G. B. Wisdom, Enzyme-Immunoassay. Clin Chem, 1976, 22, 1243.
2. G. Layh-Schmitt, Proteins complexed to the P1 adhesin of Mycoplasma pneumoniae. Microbiology, 2000, 146, lk 741–747.
3. S. Rotten, Interaction of Mycoplasma With Host Cells. Physiol Rev, 2003, 83, lk 417–432.
4. J. Petitjean, Evaluation of four Commercial Immunoglobulin G and IgM-Specific Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Infections. J Clin Microbiol, 2002, 40, lk 165–171.
5. E. Jacobs, Isolation of the Adherence Protein of Mycoplasma pneumoniae by Fractionated Solubilization and size exclusion Chromatography. Biol Chem, detsember 1988, 369, lk 1295–1299.
6. CLSI H18-A3. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline. Kolmas väljaanne. Köide 24, number 38.

16. OHUJUHTUMITEST TEATAMINE

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

	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Date of manufacture Fecha de fabricación Data di fabbricazione Datum výroby Datum proizvodnje Дата на производство Pagaminimo data Datum izdelave Datum der Herstellung	FR EL PT RO DE ET PL	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico Data fabricatiei Herstellungsdatum Valmistamise kuupäev Data produkcji
	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Use By Fecha de caducidad Utilizzare entro Použitelné do Upotrijebiti do Използване в рамките на Sunaudoti per Uporabiti do Verwendung innerhalb	FR EL PT RO DE ET PL	Utiliser jusque Ημερομηνία λήξης Prazo de validade A se folosi pana la Verwendbar bis Kasutage siseselt Data minimalnej trwałości
	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Caution, consult accompanying documents Atención, ver instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Pozor, čtěte příložené dokumenty Pozor, vidi upute za uporabu Внимание, вижте инструкциите за употреба Dėmesio, žr. naudojimo instrukciją Achtung, siehe Gebrauchsanweisung	FR EL PT RO DE ET PL	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Atentie, consultați documentele însoțitoare Achtung, Begleitdokumente beachten Tähelepanu, vt kasutusjuhendit Uwaga, patrz instrukcja obsługi
	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Manufacturer Fabricante Fabbicante Výrobce Proizvođač Производител Gamintojas Hersteller	FR EL PT RO DE ET PL	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Productator Hersteller Tootja Producent
	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Obsah stačí na <n> testů Sadržaj dovoljan za „tot.“ Testova Достаточно съдържание за "n" есета Turinio pakanka „n“ tyrimų Ausreichender Inhalt für „n“ Tests	FR EL PT RO DE ET PL	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios Continut suficient pt <n> teste Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen Piisav sisu "n" essee jaoks Zawiera wystarczającą ilość do „n” próbek
	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Temperature limitation Límite de temperatura Limiti di temperatura Teplotní omezení Temperaturne granice Температурни граници Temperatūros ribos Temperaturgrenzwerte	FR EL PT RO DE ET PL	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Limita da temperatura Temperaturbegrenzung Temperatuuriipiirangud Wartości graniczne temperatury
	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Consult Instructions for Use Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Čtěte návod k použití Pogledati upute za uporabu Вижте инструкциите за употреба Žr. naudojimo instrukcijas Siehe Gebrauchsanweisung	FR EL PT RO DE ET PL	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Pentru utilizzare consultați instrucțiunile Gebrauchsanweisung beachten Vt kasutusjuhendit Patz instrukcja obsługi
	EN ES IT CS HR BG LT	Catalogue number Número de catálogo Numero di catalogo Katalogové číslo Kataloški broj Каталожен номер Katalogo numeris	FR EL PT RO DE ET PL	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo Numar de catalog Bestellnummer Kataloogi number Numer katalogowy

	SL DE	Kataloška številka Katalognummer		
IVD	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Lékařské vybavení pro diagnostiku <i>in vitro</i> Medicinski proizvod za dijagnostiku in vitro Диагностично медицинско изделие ин витро In vitro diagnostikos medicinos priemonė Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät	FR EL PT RO DE ET PL	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> Dizpositiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i> <i>In-Vitro</i> -Diagnostikum In vitro diagnostiline meditsiiniseade Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
LOT	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Batch code Código de lote Codice del lotto Kód šarže Šifra serije Код на партидата Partijos kodas Chargen-Code	FR EL PT RO DE ET PL	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote Lot Chargenbezeichnung Partii kood Kod partii
CE 123	EN ES IT CS HR BG LT SL DE	Marcatura CE di conformità CE marking of conformity Oznakowanie zgodności CE CE-Konformität Skeneichnung CE oznaka sukladnosti Маркировка за съответствие CE EB atitikties ženklas CE-Kennzeichnung	ES EL FR PT RO ET PL	Marcado CE de conformidad Σημάνση συμμορφωσης CE Marquage de conformité CE Marcação CE de conformidade Marcajul de conformitate CE CE-vastavusmärgis Oznaczenie zgodności CE