



Návod pro použití

EIA Mycoplasma IgG

REF MyG096



Souprava pro profesionální použití



 **TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.**
Křižíkova 68, 612 00 Brno, Czech Republic
Tel.: +420 541 248 311
FAX: +420 541 243 390
E-mail: info@testlinecd.com
www.testlinecd.cz
www.testlinecd.com

OBSAH

1	Záznamy o dokumentu	3
2	Účel použití	3
3	Úvod	3
4	Princip testu.....	3
5	Složení soupravy	4
6	Další potřebné vybavení k provedení testu	5
7	Skladování a expirace soupravy.....	5
8	Příprava pracovních roztoků	5
9	Ředění vzorků	6
10	Pracovní postup	6
11	Pracovní schéma	7
12	Validita testu	8
13	Hodnocení výsledků.....	9
14	Analytická funkce soupravy	10
15	Klinická funkce soupravy.....	13
16	Bezpečnost práce	14
17	Technické připomínky	15
18	Reference	16
19	Vysvětlení symbolů	17

1 Záznamy o dokumentu

Číslo změny	Číslo verze	Popis změny
ZM01566	27	Změny dle požadavků IVDR
ZM01619		Editace referencí

2 Účel použití

Imunoenzymatická souprava slouží k diagnostice infekce *Mycoplasma pneumoniae* stanovením IgG protilátek v lidském séru nebo plazmě u obecné populace. Semi-quantitativní a kvantitativní manuální souprava je určena k profesionálnímu použití v laboratoři.

3 Úvod

Mycoplasma pneumoniae je primárním patogenem dýchacího traktu. Způsobuje pneumonie doprovázené zvýšenou teplotou, nevolností, zimnicí, kašlem a únavou. Onemocnění je vleklé, ale dobře léčitelné antibiotiky. Nákaza je přenosná vzduchem, kapénkovou infekcí. K epidemiím dochází zpravidla ve velkých zejména dětských kolektivech v jarních a podzimních měsících.

Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obrazu, epidemiologické anamnéze a laboratorních testech. Vzhledem k obtížné kultivaci *Mycoplasma pneumoniae* je pro rutinní diagnostiku vhodnou možností stanovení specifických protilátek tříd IgA, IgG a IgM v séru nebo plazmě metodou ELISA.

Při primoinfekci dochází k tvorbě protilátek třídy IgM 1. až 2. týden po infekci, maxima dosahují cca 1 měsíc od začátku onemocnění a můžou perzistovat více než 1 rok. Výskyt specifických IgM protilátek u pacientů do 20 let je 80 %, u pacientů nad 20 let je 40 %. Při reinfekcích zpravidla nedochází k jejich vzestupu.

K tvorbě protilátek třídy IgA dochází obvykle později než u IgM, častý je jejich časnější pokles. Význam mají zejména v případě absence IgM u některých pacientů a dále u reinfekcí.

U protilátek třídy IgG může docházet k vzestupu titru už po 2–3 týdnech od začátku výskytu příznaků, maximálních hladin dosahují za delší dobu, někdy až za 6 měsíců, perzistují déle než 1 rok, jsou známy případy perzistence déle než 4 roky. V případě reinfekcí je nutno hodnotit dynamiku protilátek u párových vzorků, odebraných s odstupem 1–2 týdny.

Pro hodnocení sérologických nálezů je optimální vyšetření vzorku ve všech 3 třídách protilátek, případně vyšetření párových vzorků.

4 Princip testu

Souprava umožňuje detekci specifických protilátek třídy IgG ve vzorku metodou EIA, typ sandwich (tj. pevná fáze s navázaným specifickým antigenem – protilátka z vyšetřovaného vzorku – značená protilátka). Značená protilátka (konjugát) je zvířecí imunoglobulinová frakce proti lidskému IgG konjugovaná křenovou peroxidázou. Peroxidázová aktivita se stanovuje pomocí substrátu s TMB, který zmodrá v případě positivity. Celá reakce je ukončena zastavovacím roztokem. Dojde ke změně modrého zabarvení na žluté. Intenzita žlutého zabarvení se měří na fotometru (při vlnové délce 450 nm) a je úměrná koncentraci specifických IgG protilátek přítomných ve vzorku.

Použitý antigen

Purifikovaný a inaktivovaný antigen *Mycoplasma pneumoniae* obohacený o vysoce specifické imunodominantní epitopy

5 Složení soupravy

MICROPLATE	Potažená destička		1 ks	
s navázaným antigenem, 12 x 8 jamek v sáčku se sušidlem				
CONTROL	-	CAL1	Negativní kontrola (Kalibrátor 1) 5 U/ml	1 × 2 ml
Roztok neobsahující specifické lidské protilátky, v pracovním ředění				
CUTOFF		CAL2	CUT-OFF (Kalibrátor 2) 20 U/ml	1 × 3 ml
Roztok obsahující specifické lidské protilátky v hraniční koncentraci, v pracovním ředění				
CONTROL	+	CAL3	Pozitivní kontrola (Kalibrátor 3) 80 U/ml	1 × 2 ml
Roztok obsahující specifické lidské protilátky, v pracovním ředění				
CAL4	Kalibrátor 4 (320 U/ml)			1 × 2 ml
Roztok obsahující specifické lidské protilátky, v pracovním ředění				
CONJUGATE	Konjugát			1 × 15 ml
Roztok obsahující zvířecí imunoglobulin proti lidskému IgG značený peroxidázou, v pracovním ředění				
DILUENT 2	Ředicí roztok vzorků 2			1 × 105 ml
Pufr se stabilizátory bílkovin, v pracovním ředění				
SUBSTRATE 2	TMB-Complete 2			1 × 15 ml
Jednosložkový substrátový roztok obsahující TMB/H ₂ O ₂ , v pracovním ředění				
WASH 20x	Promývací roztok			1 × 75 ml
20krát koncentrovaný pufr				
STOP	Zastavovací roztok			1 × 15 ml
Roztok kyseliny, v pracovním ředění				
Pracovní návod				1 ks

6 Další potřebné vybavení k provedení testu

Jedno a vícekanálové pipety
Špičky pro jednorázové použití
Promývací zařízení
Stopky
Termostat na 37 °C
Fotometr pro mikrotitrační destičky

7 Skladování a expirace soupravy

Soupravu skladujte při teplotě +2 °C až +8 °C. Při dodržení skladovacích podmínek platí expirace uvedená na obalu soupravy. Po otevření je doporučeno soupravu spotřebovat do 3 měsíců. Souprava nesmí zmraznout!

Vzorky a jejich skladování

K vyšetření mohou být použity vzorky uvedené v účelu použití. Jako vzorek k vyšetření může být použito lidské sérum a citrátová plazma. Vzorky bakteriálně kontaminované, hemolytické nebo chylózní a antikoagulanty obsažené v plazmě (s výjimkou citrátu) mohou ovlivnit výsledek testu.

Pro odběr séra se doporučuje odběrová zkumavka pro srážlivou krev. Pro odběr plazmy se doporučuje vak na odběr citrátové plazmy. Použití jiných typů plazmy (EDTA, heparin) je možné, ale není doporučeno, protože antikoagulanty mohou ovlivnit výsledek testu.

Při používání komerčních nebo jiných speciálně upravených vzorků postupujte podle pokynů výrobce.

Klinické vzorky odebrané v rámci běžných zdravotnických postupů do standardizovaných zkumavek jsou připraveny k okamžitému použití, centrifugace ani další separace nejsou nutné.

Vyšetřované vzorky je možno uchovávat při +2 °C až +8 °C maximálně 1 týden.

8 Příprava pracovních roztoků

Promývací roztok ředte 1:20 (1 díl roztoku a 19 dílů destilované vody). Např. 75 ml koncentrovaného Promývacího roztoku + 1425 ml destilované vody.

V lahvičce s Promývacím roztokem se mohou vytvořit krystaly solí. Tyto krystaly je třeba před použitím rozpustit zahřátím na vodní lázni. Roztok po naředění je stabilní jeden týden při +2 °C až +8 °C.

Kontroly a kalibrátory jsou v pracovním ředění, dále neředit!

Konjugát je v pracovním ředění, dále neředit!

TMB-Complete je jednosložkový chromogenní substrátový roztok v pracovním ředění, dále neředit!

Zaměnitelnost roztoků

Ředicí roztok vzorků, TMB-Complete a Aviditní roztok jsou v EIA soupravách TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. zaměnitelné, pokud mají stejné číselné označení (např. Ředicí roztok vzorků 2, Ředicí roztok vzorků 3, atd.). Zastavovací a Promývací roztok je univerzální ve všech soupravách.

9 Ředění vzorků

Ředicí roztok vzorků před použitím šetrně promíchejte.

Ředění vzorků sér a plazem

Důkladně promíchané vzorky ředte 1:101 Ředicím roztokem vzorků:

např.: 10 µl vzorku + 1 ml Ředicího roztoku vzorků.

Dobře promíchejte.

10 Pracovní postup

Všechny reagencie nechte vytemperovat na laboratorní teplotu a důkladně promíchejte. Nepoužijete-li celou destičku, zbylé stripy vraťte zpět do obalu se sušidlem, hermeticky uzavřete a skladujte při +2 °C až +8 °C. Důsledně chraňte před vlhkostí!

1. Dávky kontroly (kalibrátory) a ředěné vzorky podle pracovního schématu.

Semikvantitativní vyhodnocení v indexu pozitivity (IP)

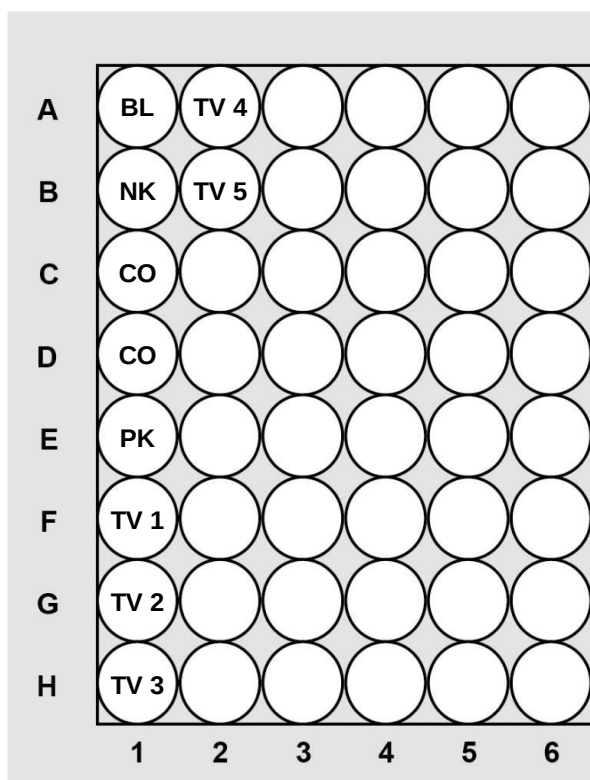
- Jamku A1 ponechte prázdnou (blank).
- Pipetujte 100 µl Negativní kontroly (Kalibrátor 1) do 1 jamky.
- Pipetujte 100 µl CUT-OFF (Kalibrátor 2) do 2 jamek.
- Pipetujte 100 µl Pozitivní kontroly (Kalibrátor 3) do 1 jamky.
- Pipetujte 100 µl vzorků v odpovídajícím ředění (viz kapitola Ředění vzorků) do zbývajících jamek.

Kvantitativní vyhodnocení v jednotkách U/ml

- Jamku A1 ponechte prázdnou (blank).
 - Pipetujte 100 µl Negativní kontroly (Kalibrátor 1) do 1 jamky.
 - Pipetujte 100 µl CUT-OFF (Kalibrátor 2) do 2 jamek.
 - Pipetujte 100 µl Pozitivní kontroly (Kalibrátor 3) do 2 jamek.
 - Pipetujte 100 µl Kalibrátoru 4 do 2 jamek.
 - Pipetujte 100 µl vzorků v odpovídajícím ředění (viz kapitola Ředění vzorků) do zbývajících jamek.
2. Destičku přikryjte víčkem a inkubujte 30 minut při 37 °C.
3. Odsajte obsah jamek a 5krát promyjte pracovním promývacím roztokem. Jamky plňte po horní okraj. Na závěr důkladně vyklepejte zbytky roztoku do svého materiálu.
4. Dávky do všech jamek kromě A1 100 µl Konjugátu.
5. Destičku přikryjte víčkem a inkubujte 30 minut při 37 °C.
6. Odsajte obsah jamek a 5krát promyjte pracovním promývacím roztokem. Jamky plňte po horní okraj. Na závěr důkladně vyklepejte zbytky roztoku do svého materiálu.
7. Dávky do všech jamek 100 µl jednosložkového substrátu TMB-Complete. Pozor na znečištění – viz kapitola Technické připomínky.
8. Destičku přikryjte víčkem a inkubujte 30 minut při 37 °C v temnu.
9. Zastavte reakci přidáním 100 µl Zastavovacího roztoku ve stejném pořadí a intervalech jako byl dávkován substrát.
10. Změřte na fotometru při vlnové délce 450 nm intenzitu zbarvení roztoků v jamkách proti blanku (jamka A1), a to do 30 minut po zastavení reakce.

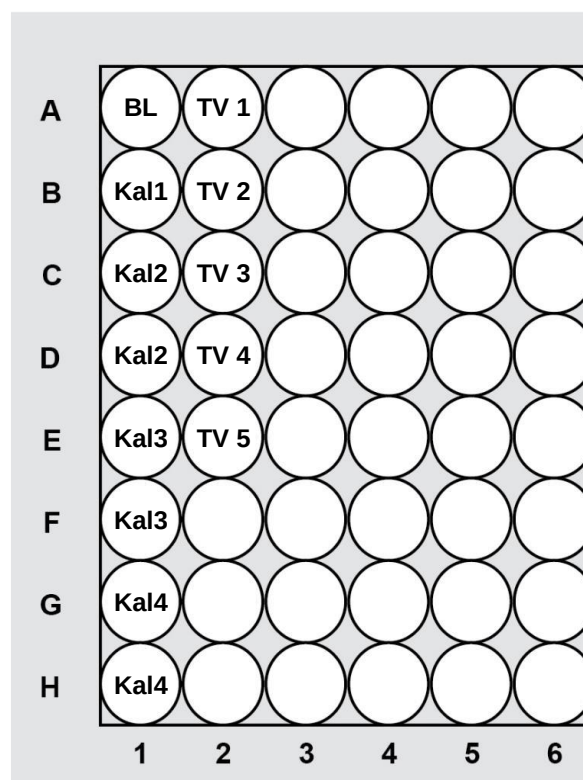
11 Pracovní schéma

semikvantitativní vyhodnocení
v indexu pozitivitu (IP)



BL	Blank (prázdná jamka)				
NK	100 µl	<table border="1"> <tr> <td>CONTROL</td><td>-</td><td>CAL1</td></tr> </table>	CONTROL	-	CAL1
CONTROL	-	CAL1			
CO	100 µl	<table border="1"> <tr> <td>CUTOFF</td><td>CAL2</td><td></td></tr> </table>	CUTOFF	CAL2	
CUTOFF	CAL2				
PK	100 µl	<table border="1"> <tr> <td>CONTROL</td><td>+</td><td>CAL3</td></tr> </table>	CONTROL	+	CAL3
CONTROL	+	CAL3			
TV 1-x	100 µl	ředěného testovaného vzorku			

kvantitativní vyhodnocení
v jednotkách U/ml



BL	Blank (prázdná jamka)				
Kal1	100 µl	<table border="1"> <tr> <td>CONTROL</td><td>-</td><td>CAL1</td></tr> </table>	CONTROL	-	CAL1
CONTROL	-	CAL1			
Kal2	100 µl	<table border="1"> <tr> <td>CUTOFF</td><td>CAL2</td><td></td></tr> </table>	CUTOFF	CAL2	
CUTOFF	CAL2				
Kal3	100 µl	<table border="1"> <tr> <td>CONTROL</td><td>+</td><td>CAL3</td></tr> </table>	CONTROL	+	CAL3
CONTROL	+	CAL3			
Kal4	100 µl	<table border="1"> <tr> <td>CAL4</td><td></td><td></td></tr> </table>	CAL4		
CAL4					
TV 1-x	100 µl	ředěného testovaného vzorku			

12 Validita testu

Test je platný, jestliže:

Absorbance blanku je menší než 0,150.

$$\text{BLANK} < 0,150$$

Absorbance Negativní kontroly (Kalibrátor 1) je menší než polovina průměru absorbance CUT–OFF (Kalibrátor 2).

$$\boxed{\text{CONTROL}} \mid \boxed{-} \mid \boxed{\text{CAL1}} < 0,5 \times \boxed{\text{CUTOFF}} \mid \boxed{\text{CAL2}}$$

Průměrná absorbance CUT–OFF (Kalibrátor 2) je v rozmezí 0,150 – 0,900.

$$0,150 < \boxed{\text{CUTOFF}} \mid \boxed{\text{CAL2}} < 0,900$$

Absorbance Pozitivní kontroly (Kalibrátor 3) je větší než 1,5násobek průměrné absorbance CUT–OFF (Kalibrátor 2).

$$\boxed{\text{CONTROL}} \mid \boxed{+} \mid \boxed{\text{CAL3}} > 1,5 \times \boxed{\text{CUTOFF}} \mid \boxed{\text{CAL2}}$$

Absorbance Kalibrátoru 4 je větší než absorbance Pozitivní kontroly (Kalibrátor 3).

$$\boxed{\text{CAL4}} > \boxed{\text{CONTROL}} \mid \boxed{+} \mid \boxed{\text{CAL3}}$$

13 Hodnocení výsledků

Výpočet Indexu positivity (IP)

Dělte absorbanci testovaného vzorku průměrnou absorbancí CUT-OFF naměřenou v téže sérii vyšetření:

$$IP = \frac{\text{Absorbance vzorku}}{\text{Průměrná absorbance CUT-OFF}}$$

Interpretace výsledků vyšetření uvádí tabulka (Tabulka 1).

Tabulka 1 Interpretace výsledků vyšetření

Index positivity (IP)	Hodnocení
menší než 0,9	negativní
0,9 až 1,1	hraniční
větší než 1,1	pozitivní

Vyšetření hraničních vzorků, tj. s indexem positivity 0,9 až 1,1 je zapotřebí opakovat z nového odběru za 2 až 6 týdnů s ohledem na specifika daného onemocnění.

Kvantitativní vyhodnocení v jednotkách (U/ml)

Sestrojte kalibrační křivku tak, že na osu X vynesete koncentrace kalibrátorů v U/ml a na osu Y odpovídající absorbance. Propojením jednotlivých bodů vytvořte kalibrační křivku. Hladinu protilátek ve vzorcích (U/ml) stanovte odečtením těchto hodnot z kalibrační křivky. Interpretace výsledků kvantitativního vyhodnocení testu uvádí tabulka (Tabulka 2).

Tabulka 2 Kvantitativní interpretace v jednotkách (U/ml)

Hladina protilátek (U/ml)	Hodnocení
menší než 18	negativní
18 až 22	hraniční
větší než 22	pozitivní

Vyšetření hraničních vzorků je zapotřebí opakovat z nového odběru za 2 až 6 týdnů s ohledem na specifika daného onemocnění.

Sérologický náález je možno interpretovat pouze v kontextu s výsledky ostatních laboratorních testů a s klinickým obrazem pacienta.

14 Analytická funkce soupravy

14.1 Specifita a citlivost

Specifita byla stanovena na panelu negativních vzorků. Citlivost byla stanovena na panelu pozitivních vzorků. Počet testovaných vzorků a získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 3).

14.2 Pravdivost (bias)

Pravdivost je těsnost shody mezi průměrnou hodnotou získanou z velkého počtu výsledků měření a referenční hodnotou. Její mírou je vychýlení (bias). Podstata metody neumožňuje kvantitativní stanovení vychýlení (a tím i pravdivosti). Správnost metody je zajištěna klinickými parametry, jako je citlivost a specifita, porovnání s referenční metodou a kontinuita šarží. Získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 3).

14.3 Preciznost: Opakovatelnost – Intra-assay (within-run)

Preciznost za podmínek opakovatelnosti je definována jako těsnost shody mezi naměřenými hodnotami získanými replikovaným měřením vzorků na stejném objektu za stejných podmínek v jedné sérii vyšetření. Získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 3).

14.4 Preciznost: Reprodukovatelnost – Inter-assay (between-run)

Preciznost za podmínek reprodukovatelnosti vyjadřuje stupeň shody mezi replikacemi vzorků v několika sériích vyšetření stejné šarže. Získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 3).

14.5 Přesnost

Přesnost je definována jako těsnost shody mezi naměřenou hodnotou a referenční hodnotou. Je vyjádřena dosažitelnou mírou kombinované nejistoty. Výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 3).

14.6 Analytická citlivost – meze detekce a kvantifikace

Je to maximální ředění hraničního nebo slabě pozitivního vzorku, eventuálně mezinárodně uznávaných standardů, při kterém se ještě mění absorbance. Je vyjádřena v indexu positivity a/nebo v jednotkách. Tato hodnota představuje minimální mez detekce a kvantifikace. Získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 3).

14.7 Rozsah měření soupravy

Rozsah měření soupravy leží mezi hodnotami, kde dolní mez je určena hodnotou analytické citlivosti a horní mez závisí na měřicí schopnosti použitého přístroje.

14.8 Linearita

Linearita je schopnost metody získat výsledné hodnoty úměrné koncentraci analytu ve vzorku. Vyjadřuje se jako rozsah rozmezí, ve kterém metoda poskytuje lineární výsledky. Získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 3).

14.9 Hook efekt

Hook efekt je imunologický jev, který způsobuje falešně nízké výsledky v přítomnosti nadměrného množství analytu. Jeho přítomnost se zjišťuje sériovým ředěním vysoce pozitivního vzorku (Tabulka 3).

14.10 Porovnání s referenční metodou

Bylo provedeno srovnání s referenční metodou. Výsledky obou metod jsou srovnatelné, s přihlédnutím k odlišnostem obou metod a zcela vyhovují požadavkům, pokud je shoda v klasifikaci vzorků alespoň 90 % (Tabulka 3).

Tabulka 3 Analytická funkce soupravy

Parametr	Hodnota
Citlivost (n 120)	97,48 %
Specifita (n 164)	97,50 %
Pravdivost (bias)	N/A
Preciznost: Opakovatelnost	4,45 %
Preciznost: Reprodukovatelnost	6,94 %
Přesnost	8,88 %
Analytická citlivost	IP 0,03
	0,63 U/ml
Interval linearity	IP 0,08–3,65
	5,50–74,80 U/ml
Hook efekt	Nezjištěno
Porovnání s referenční metodou	Minimálně 90 %

N/A – není aplikovatelné

14.11 Interference

Dva vzorky (jeden mix negativních plazem a jeden mix pozitivních plazem) byly obohaceny potenciálně interferujícími látkami. Výsledky interference uvádí tabulka (Tabulka 4).

Tabulka 4 Výsledky interference

Interferující látka	Výsledek neovlivněn do koncentrace:
Bilirubin	0,4 mg/ml
Triacylglyceroly	20 mg/ml
Hemoglobin	5 mg/ml

14.12 Zkřížená reaktivita

Na soupravě byly vyšetřeny vzorky pozitivní pro vybrané potenciálně zkříženě reagující patogeny nebo faktory. Výsledky testu shrnuje tabulka (Tabulka 5).

Tabulka 5 Výsledky zkříženě reagujících patogenů nebo faktorů

Kategorie	(n)	Pozitivní výsledek
EBV VCA	5	0
VZV	5	0
CMV	4	0
HSV 1+2	5	0
Virus spalniček	5	0
Virus zarděnek	5	0
Virus příušnic	5	0
Chlamydia pneumoniae	7	1
Bordetella pertussis	6	1
Virus chřipky A	6	1
Virus chřipky B	6	1
Virus parainfluenzy	6	1
Adenovirus	12	1
RSV	12	1
SARS-CoV-2	9	0
Celkem	98	7

15 Klinická funkce soupravy

15.1 Diagnostická specifita a diagnostická citlivost

Diagnostická specifita byla stanovena na panelu negativních vzorků. Diagnostická citlivost byla stanovena na panelu pozitivních vzorků. Počet testovaných vzorků a získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 6).

15.2 Pozitivní a negativní prediktivní hodnota

Pozitivní prediktivní hodnota je pravděpodobnost, že osoba je skutečně postižená infekcí, pokud byl výsledek pozitivní. Negativní prediktivní hodnota je pravděpodobnost, že osoba je skutečně zdravá, pokud byl výsledek negativní. Získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 6).

15.3 Věrohodnostní poměr soupravy

Věrohodnostní poměr pro pozitivní test je definován jako podíl pravděpodobnosti, že jedinec z postižené populace je testem diagnostikován jako pozitivní, a pravděpodobnosti, že zdravý jedinec je chybně diagnostikován jako pozitivní.

Věrohodnostní poměr pro negativní test je definován jako podíl pravděpodobnosti, že jedinec z postižené populace je testem chybně diagnostikován jako negativní, a pravděpodobnosti, že zdravý jedinec je diagnostikován jako negativní. Získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 6).

15.4 Očekávané hodnoty v populaci

Očekávané hodnoty v populaci jsou stanoveny na základě výsledků hodnot u souboru vzorků deklarovaných jako negativních a souboru vzorků deklarovaných jako pozitivních pro přítomnost specifických protilátek. Získané výsledky jsou popsány v tabulce (Tabulka 6).

Tabulka 6 Klinická funkce soupravy

Parametr	Hodnota	95% Interval spolehlivosti (CI)
Diagnostická citlivost (n 120)	97,48 %	92,81–99,48 %
Diagnostická specifita (n 164)	97,50 %	93,72–99,31 %
Pozitivní prediktivní hodnota (n 120)	96,67 %	91,69–99,08 %
Negativní prediktivní hodnota (n 164)	98,11 %	94,59–99,61 %
Věrohodnostní poměr soupravy pro pozitivní test	38,992	-
Věrohodnostní poměr soupravy pro negativní test	0,026	-
Očekávané hodnoty ve zdravé populaci	IP 0,31	IP 0,27–0,35
Očekávané hodnoty v postižené populaci	IP 2,37	IP 2,22–2,52

16 Bezpečnost práce

Souprava je určena pouze pro diagnostické účely in vitro.

Séra použitá při výrobě kontrol byla vyšetřena na HIV 1 a HIV 2, HBsAg, HCV, TPHA s negativním výsledkem. Přesto je třeba s nimi pracovat jako s potenciálně infekčním materiálem.

Některé reagenty obsahují toxickou složku azid sodný nebo gentamicin, avšak ve velmi nízkých koncentracích. Vyvarujte se kontaktu s kůží.

Zastavovací roztok obsahuje zředěný roztok kyseliny. Při práci s tímto roztokem chraňte oči a pokožku!

Je nutné dodržovat místní předpisy týkající se bezpečnosti práce.

První pomoc

Při zasažení očí vymývejte velkým množstvím vlažné vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Při zasažení oděvu a kůže odložte veškeré kontaminované oblečení. Pokožku omyjte velkým množstvím vody a mýdlem. Při potřísnění roztokem, který obsahuje plazmu nebo klinický vzorek, pokožku dezinfikujte. Při náhodném požití vypláchněte ústa pitnou vodou a vyhledejte lékařskou pomoc.

Likvidace zbytků po provedení testů

Veškeré pomůcky použité k provedení testu je nutné považovat vzhledem ke kontaktu s biologickým materiálem za potenciálně infekční. Proto je likvidujte společně s biologickým odpadem.

Likvidace soupravy po expiraci

Soupravu rozeberte na jednotlivé komponenty a zlikvidujte je jako biologický materiál. Obaly a zbytky obalů likvidujte jako tříděný odpad podle místních předpisů.

17 Technické připomínky

Pro získání spolehlivých výsledků je nutné přesné dodržování návodu. Při práci používejte vždy pomůcky nejvyšší čistoty. Dávejte přednost jednorázovým pomůckám.

Mikrotitrační destička – před otevřením nechejte vždy sáček s mikrotitrační destičkou vytemperovat na laboratorní teplotu, aby nedošlo ke kondenzaci vodních par na povrchu destičky.

Promývací roztok – pro přípravu promývacího roztoku v pracovním ředění používejte vysoce kvalitní destilovanou vodu.

Promývání – dodržujte předepsaný počet promývacích cyklů a jamky plňte vždy až po horní okraj. Doba, po kterou zůstávají jamky naplněny promývacím roztokem mezi promývacími cykly (soak time), by měla být asi 30–60 sekund.

TMB-Complete – pipetovací vaničku pro TMB-Complete nepoužívejte pro jiné roztoky. Zbytek roztoku z pipetovací vaničky nevracejte zpět do lahvičky.

Nereprodukovatelné výsledky mohou pocházet z metodických chyb, zejména:

- nedostatečné promíchání roztoků a vzorků před použitím
- záměna uzávěrů lahviček
- použití stejné špičky při pipetování různých roztoků
- vystavení reagensů nadměrné teplotě, bakteriální nebo chemické kontaminaci
- nedostatečné promytí jamek, neplnění jamek až po okraj, špatné odsátí zbytků roztoku
- znečištění okrajů jamek konjugátem nebo vzorky
- záměna reagensů z různých šarží souprav
- kontakt reagensů s oxidanty, těžkými kovy a jejich solemi

Technické limitace vzorků

Při výrobě a vývoji soupravy byly použity materiály humánního původu od populace dárců uvedené v účelu použití. Pokud není uvedeno jinak, soupravy jsou určeny pro použití v obecné populaci.

Při použití vzorků z jiných specifických populací (komorbidní, imunokompromitovaná, těhotné, dětská populace) je třeba v kontextu odborných znalostí a aktuálních vědeckých poznatků zvážit riziko specifického ovlivnění výsledku aplikovaného testu způsobené např. interferencí nebo zkříženou reaktivitou.

Další připomínky

Soupravu je možno zpracovávat postupně. Pro přípravu pracovních roztoků odeberte jen takové množství reagensů, které bude spotřebováno pro analýzu.

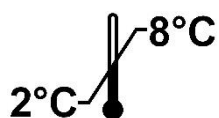
Soupravu je možno zpracovat na všech typech automatických ELISA analyzátorů. V případě potřeby TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. nabízí certifikovanou modifikaci pracovního návodu pro konkrétní typ analyzátoru.

Při nedodržení pracovního postupu výrobce neodpovídá za správnou funkci soupravy.

18 Reference

1. Dionisio D, Valassina M, Uberti M, Fabbri C, Parri F, Saffi EG. *Mycoplasma pneumoniae* non-pulmonary infection presenting with pharyngitis, polyarthritits and localized exanthem. *Scand J Infect Dis*. 2001. 33: 782–783.
2. Drasbek M, Nielsen PK, Persson K, Birkelund S, Christiansen G. Immune response to *Mycoplasma pneumoniae* P1 and P116 in patients with atypical pneumonia analyzed by ELISA. *BMC Microbiol*. 2004. 4 (7): 1–10.
3. Ferwerda A, Moll HA, de Groot R. Respiratory tract infections by *Mycoplasma pneumoniae* in children: a review of diagnostic and therapeutic measures. *Eur J Pediatr*. 2001. 160: 483–491.
4. Foy HM. Infections caused by *Mycoplasma pneumoniae* and possible carrier state in different populations of patients. *J Clin Infect Dis*. 1993. 17 (1): 37–47.
5. Hammerschlag MR. *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2001. 14: 181–186.
6. Hu PC, Collier AM, Baseman JB. Surface parasitism by *Mycoplasma pneumoniae* of respiratory epithelium. *J Exp Med*. 1977. 145: 1328–1343.
7. Kleemola M, Käyhty H. Increase of titers of antibodies to *Mycoplasma pneumoniae* in patients with purulent meningitis. *J Infect Dis*. 198. 146: 284–288.
8. Sillis M. The limitations of IgM assays in the serological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *J Med Microbiol*. 1990. 33: 253–258.
9. Sotgiu S, Pugliatti M, Rosati G, Deiana GA, Sechi GP. Neurological disorders associated with *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Eur J Neurol*. 2003. 10: 165–168.
10. Taylor-Robinson D. Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: an update. *Clin Infect Dis*. 1996. 23: 671–684.

19 Vysvětlení symbolů



Skladovací teplota



Udržovat v suchu



Použít do data



Číslo šarže



Výrobce



Čtěte návod k použití



Katalogové číslo



Počet testů



Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro

Schéma testu EIA Mycoplasma IgG

Krok	Symbol	Jednotlivé kroky testu
1		Ředění vzorků séra/plazmy 1:101 (10 µl + 1 ml)
2		Dávkování kalibrátorů a ředěných vzorků 100 µl Blank = prázdná jamka
3		Inkubace 30 min při 37 °C
4		Odsátí a promytí jamek 5krát
5		Dávkování Konjugátu 100 µl Blank = prázdná jamka
6		Inkubace 30 min při 37 °C
7		Odsátí a promytí jamek 5krát
8		Dávkování substrátu (TMB-Complete) 100 µl Včetně blanku
9		Inkubace 30 min při 37 °C
10		Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl Včetně blanku
11		Fotometrické měření při 450 nm