

**VIROTECH Mycoplasma pneumoniae IgG/IgM ELISA
(M. pneumoniae IgG/IgM ELISA)**

Αρ. παραγγελίας: EC114.00

M. pneumoniae IgA-Set

Αρ. παραγγελίας: EC114.08

Χρωματική σήμανση: σκούρο μπλε

ΜΟΝΟ ΓΙΑ IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

Virotech Diagnostics GmbH

Waldstrasse 23 A2

63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49(0)6074-23698-0

Fax.: +49(0)6074-23698-900

www.goldstandarddiagnostics.com



Περιεχόμενα

1. Προοριζόμενη χρήση.....	3
2. Αρχή της δοκιμασίας	3
3. Περιεχόμενα συσκευασίας.....	3
3.1 Κιτ δοκιμασίας IgG/IgM	3
3.2 Σετ IgA.....	3
4. Φύλαξη και διάρκεια ζωής του κιτ δοκιμασίας και των έτοιμων για χρήση αντιδραστηρίων	4
5. Μέτρα προφύλαξης και προειδοποιητικές υποδείξεις.....	4
6. Επιπλέον απαιτούμενα υλικά (δεν παρέχονται)	4
7. Εκτέλεση δοκιμασίας.....	4
7.1 Υλικό εξέτασης.....	5
7.2 Προετοιμασία των αντιδραστηρίων.....	5
7.3 Εκτέλεση δοκιμασίας VIROTECH ELISA.....	5
7.4 Χρήση αναλυτών ELISA.....	6
8. Αξιολόγηση της δοκιμασίας.....	6
8.1 Έλεγχος λειτουργίας δοκιμασίας	6
8.2 Υπολογισμός των μονάδων VIROTECH (VE)	6
8.3 Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.....	6
8.4 Πίνακας ερμηνείας	7
8.5 Περιορισμοί της δοκιμασίας.....	7
9. Βιβλιογραφία	8
10. Πίνακας εκτέλεσης δοκιμασίας.....	9

1. Προοριζόμενη χρήση

Η δοκιμασία *Mycoplasma pneumoniae* ELISA χρησιμεύει για την ημιποσοτική και ποιοτική ανίχνευση αντισωμάτων IgG, IgM και IgA σε ανθρώπινο ορό. Η ανίχνευση αντισωμάτων IgG είναι σχεδιασμένη με τέτοιο τρόπο ώστε να ανιχνεύει κυρίως πρόσφατες λοιμώξεις.

2. Αρχή της δοκιμασίας

Το προς ανίχνευση αντίσωμα συνδέεται με το καθηλωμένο στην πλάκα μικροπιτλοδότησης αντιγόνο σε ένα ανοσοσύμπλοκο. Οι μη συνδεδεμένες ανοσοσφαιρίνες απομακρύνονται με τη διαδικασία πλύσης. Σε αυτό το σύμπλοκο προσδένεται το ενζυμικό σύμπλεγμα. Οι μη συνδεδεμένες ανοσοσφαιρίνες απομακρύνονται με τη σειρά τους κατά τη διαδικασία πλύσης. Μετά από προσθήκη του διαλύματος υποστρώματος (TMB), η ενζυμική δραστηριότητα (υπεροξειδάση) οδηγεί στη δημιουργία μίας μπλε χρωστικής, το χρώμα της οποίας μετατρέπεται σε κίτρινο μετά την προσθήκη του ανασχετικού διαλύματος.

3. Περιεχόμενα συσκευασίας

3.1 Κιτ δοκιμασίας IgG/IgM

1. **1 πλάκα μικροπιτλοδότησης**, αποτελούμενη από 96 μεμονωμένα, αποσπώμενα, επιστρωμένα με λυοφιλοποιημένο αντιγόνο φρεάτια.
2. **Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης PBS (μπλε, έτοιμο για χρήση) 1x50ml**, pH 7,2, με συντηρητικό και Tween 20.
3. **Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης VZV-IgM (πράσινο, έτοιμο για χρήση) 1x50ml**, pH 7,2, με συντηρητικό και Tween 20.
4. **Διάλυμα πλύσης PBS (συμπυκνωμένο x20), 50ml**, pH 7,2, με συντηρητικό και Tween 20.
5. **Αρνητικός ορός ελέγχου IgG, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
6. **Ορός ελέγχου αποκλεισμού IgG, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
7. **Θετικός ορός ελέγχου IgG, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
8. **Αρνητικός ορός ελέγχου IgM, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
9. **Ορός ελέγχου αποκλεισμού IgM, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
10. **Θετικός ορός ελέγχου IgM, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
11. **Σύζευγμα IgG (αντι-ανθρώπου), 11ml**, (προβάτου ή αίγας)-σύζευγμα ραφανιδικής υπεροξειδάσης με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris, έτοιμο για χρήση
12. **Σύζευγμα IgM (αντι-ανθρώπου), 11ml**, (προβάτου ή αίγας)-σύζευγμα ραφανιδικής υπεροξειδάσης με FCS και συντηρητικό σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris, έτοιμο για χρήση
13. **Τετραμεθυλβενζιδίνη – Διάλυμα υποστρώματος (3,3',5,5'-TMB), 11ml**, έτοιμο για χρήση
14. **Ανασχετικό διάλυμα κιτρικού άλατος, 6ml**, περιέχει μίγμα οξέων

3.2 Σετ IgA

1. **Αρνητικός ορός ελέγχου IgA, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
2. **Ορός ελέγχου αποκλεισμού IgA, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
3. **Θετικός ορός ελέγχου IgA, 1300μl**, ανθρώπινος ορός με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και συντηρητικό, έτοιμος για χρήση
4. **Σύζευγμα IgA 2 (αντί-ανθρώπου), 11ml**, (προβάτου ή αίγας)-σύζευγμα ραφανιδικής υπεροξειδάσης με FCS και συντηρητικό σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris, έτοιμο για χρήση

4. Φύλαξη και διάρκεια ζωής του kit δοκιμασίας και των έτοιμων για χρήση αντιδραστηρίων

Φυλάσσετε το kit δοκιμασίας στους 2-8°C. Η διάρκεια ζωής των μεμονωμένων συστατικών αναγράφεται στην εκάστοτε ετικέτα. Για τη διάρκεια ζωής του kit ανατρέξτε στο πιστοποιητικό ελέγχου ποιότητας.

- Μετά την αφαίρεση των απαιτούμενων φρεατίων, φυλάξτε τα υπόλοιπα φρεάτια/ταινίες σε κλειστή σακούλα με αποξηραντικό στους 2-8°C. Μόλις χρησιμοποιήσετε τα αντιδραστήρια, φυλάξτε τα πάλι στους 2-8°C.
- Το έτοιμο για χρήση σύζευγμα και το διάλυμα υποστρώματος TMB είναι φωτοευαίσθητα και πρέπει να φυλάσσονται στο σκοτάδι. Το διάλυμα υποστρώματος θα πρέπει να απορριφθεί εάν αποκτήσει χρώμα λόγω διείσδυσης φωτός.
- Λάβετε από το έτοιμο για χρήση σύζευγμα ή TMB μόνο την απαιτούμενη ποσότητα για την εκτέλεση της δοκιμασίας.

Υλικό	Κατάσταση	Αποθήκευση	Αντοχή
Δείγματα εξέτασης	αραιωμένο	+2 έως +8°C	μέν. 6 ώρ.
	μη αραιωμένο	+2 έως +8°C	1 εβδομάδα
Μάρτυρες	μετά το άνοιγμα	+2 έως +8°C	3 μήνες
Πλάκα μικροτιτλοδότησης	μετά το άνοιγμα	+2 έως +8°C (φύλαξη στον παρεχόμενο σάκκο με αφυγραντικό μέσο)	3 μήνες
Απορροφητικό ρευματοειδούς παράγοντα	μη αραιωμένο, μετά το άνοιγμα	+2 έως +8°C	3 μήνες
	αραιωμένο	+2 έως +8°C	1 εβδομάδα
Σύζευγμα	μετά το άνοιγμα	+2 έως +8°C (προστατευμένο από το φως)	3 μήνες
Τετραμεθυλβενζιδίνη (TMB)	μετά το άνοιγμα	+2 έως +8°C (προστατευμένο από το φως)	3 μήνες
Ανασχετικό διάλυμα	μετά το άνοιγμα	+2 έως +8°C	3 μήνες
Διάλυμα πλύσης	μετά το άνοιγμα	+2 έως +8°C	3 μήνες
	πλήρως αραιωμένο (έτοιμο για χρήση)	+2 έως +25°C	4 εβδομάδες

5. Μέτρα προφύλαξης και προειδοποιητικές υποδείξεις

- Ως οροί ελέγχου χρησιμοποιούνται μόνο οροί που ελέγχθηκαν και απέβησαν αρνητικοί για αντισώματα έναντι των ιών HIV1, HIV2, HCV και του επιφανειακού αντιγόνου ηπατίτιδας Β. Παρ' όλα αυτά, όλα τα δείγματα, τα αραιωμένα δείγματα, οι οροί ελέγχου, τα συζεύγματα και οι ταινίες μικροτιτλοδότησης θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά μολυσματικά υλικά και ο χειρισμός τους θα πρέπει να είναι προσεκτικός. Ισχύουν οι εκάστοτε κατευθυντήριες οδηγίες εργαστηριακών εργασιών.
- Τα συστατικά που περιέχουν συντηρητικό, ανασχετικό διάλυμα κιτρικού άλατος και TMB είναι ερεθιστικά για το δέρμα, τα μάτια και τους βλεννογόνους. Σε περίπτωση επαφής, εκπλύνετε αμέσως με τρεχούμενο νερό και αναζητήστε ενδεχομένως ιατρική βοήθεια.
- Τα χρησιμοποιημένα υλικά απορρίπτονται σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της εκάστοτε χώρας.

6. Επιπλέον απαιτούμενα υλικά (δεν παρέχονται)

- Απεσταγμένο/απιονισμένο νερό
- Πολυκάναλη πιπέτα 50μl, 100μl
- Μικροπιπέτες: 10μl, 100μl, 1000μl
- Φιαλίδια αντίδρασης
- Φύλλα χαρτοβάμβακα
- Καλύμματα πλακών ELISA
- Περιέκτης μολυσματικών αποβλήτων
- Συσκευή πλύσης πλακών μικροτιτλοδότησης ELISA, χειρός ή αυτόματη
- Φασματοφωτόμετρο για πλάκες μικροτιτλοδότησης με φίλτρο 450/620nm (μήκος κύματος αναφοράς 620-690nm)
- Θάλαμος επώασης

7. Εκτέλεση δοκιμασίας

Η πιστή τήρηση των οδηγιών εργασίας της VIROTECH Diagnostics αποτελεί προϋπόθεση για τη λήψη ορθών αποτελεσμάτων.

7.1 Υλικό εξέτασης

Ως υλικό εξέτασης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ορός και πλάσμα (στη συγκεκριμένη περίπτωση, το είδος των αντιπηκτικών δεν είναι σημαντικό), εάν και σε αυτό το ένθετο συσκευασίας αναφέρεται μόνο ορός.

Πραγματοποιείτε πάντα φρέσκιες αραιώσεις ασθενούς.

Εάν επιθυμείτε να τις διατηρήσετε για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα θα πρέπει να τις καταψύξετε. Αποφύγετε επανειλημμένη απόψυξή τους.

1. Χρησιμοποιείτε μόνο φρέσκους ορούς που δεν έχουν αδρανοποιηθεί.
2. Μη χρησιμοποιείτε υπερλιπιδαιμικά, αιμολυμένα, μικροβιακά μολυσμένα δείγματα και θολерούς ορούς (ψευδώς θετικά/αρνητικά αποτελέσματα).

7.2 Προετοιμασία των αντιδραστηρίων

Το διαγνωστικό σύστημα της VIROTECH Diagnostics παρέχει μεγάλη ευελιξία, εφόσον τα ρυθμιστικά διαλύματα αραιώσης και πλύσης, το TMB, το ανασχετικό διάλυμα κιτρικού άλατος και το σύζευγμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για κάθε παράμετρο και με οποιαδήποτε παρτίδα. Οι έτοιμοι για χρήση οροί ελέγχου (θετικός ορός ελέγχου, ορός ελέγχου αποκλεισμού, αρνητικός ορός ελέγχου) είναι ειδικοί για την εκάστοτε παράμετρο και πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο μαζί με την παρτίδα πλακών που αναφέρεται στο πιστοποιητικό ελέγχου ποιότητας.

1. Ρυθμίστε το θάλαμο επώασης στους 37°C και επιβεβαιώστε την επίτευξη αυτής της θερμοκρασίας πριν ξεκινήσετε την επώαση.
2. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου. Μόνο τότε ανοίξετε τη συσκευασία με τις ταινίες ελέγχου.
3. Πριν από τη χρήση, ανακινήστε καλά όλα τα συστατικά σε υγρή μορφή.
4. Γεμίστε το συμπύκνωμα διαλύματος πλύσης μέχρι το 1 λίτρο με απεσταγμένο/απιονισμένο νερό (σε περίπτωση ενδεχόμενης κρυσταλλοποίησης του συμπυκνώματος, φέρετε το σε θερμοκρασία δωματίου πριν την αραιώση και ανακινήστε το καλά πριν τη χρήση).
5. Υψηλοί τίτλοι IgG ή ρευματοειδούς παράγοντα ενδέχεται να διαταράζουν την ειδική ανίχνευση IgM αντισωμάτων και να οδηγήσουν σε ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. **Ο ορός υποβάλλεται σε προεπεξεργασία με RF-SorboTech** (απορροφητικό μέσο VIROTECH). Για τους ορούς ελέγχου IgM δεν απαιτείται προκαταρκτική απορρόφηση.

7.3 Εκτέλεση δοκιμασίας VIROTECH ELISA

1. Για κάθε εκτέλεση της δοκιμασίας, διανείμετε με πιπέτα 100μl του έτοιμου για χρήση ρυθμιστικού διαλύματος αραιώσης (τυφλό δείγμα), του αρνητικού ορού ελέγχου, του ορού ελέγχου αποκλεισμού και του θετικού ορού ελέγχου IgG, IgM και IgA καθώς και των αραιωμένων ορών ασθενούς. Συνιστούμε τη διπλή εκτέλεση της δοκιμασίας (τυφλό δείγμα, οροί ελέγχου και οροί ασθενούς). Η διπλή εκτέλεση του ορού ελέγχου αποκλεισμού είναι απολύτως αναγκαία. Αραίωση εργασίας των ορών ασθενούς: 1+100 – π.χ. 10μl ορού + 1ml ρυθμιστικού διαλύματος αραιώσης.
2. Μετά τη διανομή με πιπέτα ακολουθεί η επώαση για 30 min στους 37 °C (με κάλυμμα).
3. Η περίοδος επώασης τερματίζεται με 4 πλύσεις, χρησιμοποιώντας 350-400μl διαλύματος πλύσης ανά φρεάτιο για κάθε πλύση. Δεν θα πρέπει να παραμείνει διάλυμα πλύσης στα φρεάτια. Απομακρύνετε τα υπολείμματα υγρού κτυπώντας ελαφρά επάνω σε υπόθεμα χαρτοβάμβακα.
4. Διανείμετε με πιπέτα 100μl του έτοιμου για χρήση συζεύγματος σε όλα τα φρεάτια.
5. Επώαση των συζευγμάτων: 30 min στους 37°C (με κάλυμμα).
6. Η επώαση των συζευγμάτων τερματίζεται με 4 πλύσεις (βλ. σημείο 3).
7. Διανείμετε με πιπέτα 100μl του έτοιμου για χρήση διαλύματος υποστρώματος TMB σε κάθε φρεάτιο.
8. Επώαση του διαλύματος υποστρώματος: 30 λεπτά στους 37°C (καλυμμένο, σε σκοτεινό χώρο).
9. Ανάσχεση της αντίδρασης υποστρώματος: διανείμετε με πιπέτα 50μl του ανασχετικού διαλύματος κιτρικού άλατος σε κάθε φρεάτιο. Ανακινήστε την πλάκα προσεκτικά και σχολαστικά έως ότου αναμιχθούν πλήρως τα υγρά και διαπιστώσετε ομοιογενές κίτρινο χρώμα.
10. Μετρήστε τις απορροφήσεις στα 450/620nm (μήκος κύματος αναφοράς 620-690nm). Ρυθμίστε το φωτόμετρο με τρόπο που η απορρόφηση του τυφλού δείγματος να αφαιρείται από όλες τις υπόλοιπες απορροφήσεις. Η φωτομέτρηση θα πρέπει να εκτελείται εντός μίας ώρας από την προσθήκη του ανασχετικού διαλύματος.

Για τη σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας βλ. τελευταία σελίδα

7.4 Χρήση αναλυτών ELISA

Όλες οι δοκιμασίες ELISA της VIROTECH Diagnostics μπορούν να υποστούν επεξεργασία με επεξεργαστές ELISA. Ο χειριστής υποχρεούται να εκτελεί τακτικές βαθμονομήσεις της συσκευής.

Η VIROTECH Diagnostics συνιστά την εξής διαδικασία:

1. Σε εγκατάσταση της συσκευής ή εκτεταμένες επισκευές του αναλυτή ELISA, η VIROTECH Diagnostics συνιστά βαθμονόμηση της συσκευής σας σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή της συσκευής.
2. Ακολούθως συνιστάται ο έλεγχος του επεξεργαστή ELISA με το κιτ επαλήθευσης (EC250.00). Ο περιοδικός έλεγχος με το κιτ επαλήθευσης πρέπει να εκτελείται τουλάχιστον μία φορά κάθε τρίμηνο.
3. Σε κάθε εκτέλεση της δοκιμασίας θα πρέπει να πληρούνται τα κριτήρια έγκρισης του πιστοποιητικού ελέγχου ποιότητας του προϊόντος.

Η συγκεκριμένη διαδικασία διασφαλίζει την απρόσκοπτη λειτουργία του επεξεργαστή ELISA και εκτός αυτού συμβάλλει στη διασφάλιση της ποιότητας του εργαστηρίου.

8. Αξιολόγηση της δοκιμασίας

Οι έτοιμοι για χρήση οροί ελέγχου προορίζονται για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό ειδικών IgG, IgA και IgM αντισωμάτων, η συγκέντρωση των οποίων μετράται σε μονάδες VIROTECH (=VE). Αποκλίσεις οφειλόμενες στη διαδικασία της δοκιμασίας αντισταθμίζονται με τη μέθοδο υπολογισμού. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται υψηλό ποσοστό αναπαραγωγιμότητας. Για τον υπολογισμό των μονάδων VIROTECH χρησιμοποιούνται οι μέσοι όροι των τιμών οπτικής πυκνότητας (OD).

8.1 Έλεγχος λειτουργίας δοκιμασίας

α) Τιμές OD

Η τιμή OD του τυφλού δείγματος πρέπει να είναι μικρότερη του 0,15.

Οι τιμές OD των αρνητικών ορών ελέγχων πρέπει να υπολείπονται των τιμών OD που αναφέρονται στο πιστοποιητικό ελέγχου ποιότητας, ενώ οι τιμές OD των θετικών ορών ελέγχου και των ορών ελέγχου αποκλεισμού πρέπει να υπερβαίνουν τις τιμές OD που αναφέρονται στο πιστοποιητικό ελέγχου ποιότητας.

β) Μονάδες VIROTECH (VE)

Οι μονάδες VIROTECH (VE) των ορών ελέγχου αποκλεισμού ορίζονται με 10 VE. Οι υπολογισμένες μονάδες VE των θετικών ορών ελέγχου πρέπει να βρίσκονται εντός των ευρών που αναφέρει το πιστοποιητικό ελέγχου ποιότητας.

Η δοκιμασία θα πρέπει να επαναληφθεί εάν δεν πληρούνται οι απαιτήσεις (τιμές OD, μονάδες VE).

8.2 Υπολογισμός των μονάδων VIROTECH (VE)

Η απορρόφηση του μηδενικού δείγματος (450/620nm) πρέπει να αφαιρείται από όλες τις απορροφήσεις.

$$\begin{aligned} \text{VE (θετικός ορός ελέγχου)} &= \frac{\text{OD (θετικός ορός ελέγχου)}}{\text{OD (ορός ελέγχου αποκλεισμού)}} \times 10 \\ \text{VE (ορός ασθενούς)} &= \frac{\text{OD (ορός ασθενούς)}}{\text{OD (ορός ελέγχου αποκλεισμού)}} \times 10 \end{aligned}$$

8.3 Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

α) Σε IgM και IgA για όλους τους ασθενείς, σε IgG για ασθενείς ηλικίας > 14 ετών

Αποτέλεσμα (VE) (IgG > 14 ετών, IgM και IgA)	Αξιολόγηση
< 9,0	αρνητικό
9,0 – 11,0	οριακό
> 11,0	θετικό

β) Σε IgG για παιδιά (ηλικίας 0-14 ετών), όταν είναι IgM ή/και IgA θετικά

Για παιδιά ηλικίας μεταξύ 0 και 14 ετών, είναι δυνατόν η περιοχή οριακών τιμών (αποκοπή) στην IgG να μετακινηθεί προς τα κάτω, καθώς η δοκιμασία VIROTECH ELISA σε IgG είναι σχεδιασμένη με τέτοιο τρόπο ώστε να ανιχνεύει κυρίως οξείες λοιμώξεις. Προϋπόθεση για την εφαρμογή αυτού του σχήματος είναι ο ορός να δίνει θετικό αποτέλεσμα για IgM ή/και IgA.

Αποτέλεσμα (VE) (IgG 0-14 ετών)	Αξιολόγηση
< 7,0	αρνητικό
7,0 - 8,0	οριακό
> 8,0	θετικό

- Εάν οι μετρημένες μονάδες VE του δείγματος υπερβαίνουν το οριακό εύρος, τα δείγματα θεωρούνται θετικά.
- Για την ασφαλή ανίχνευση λοίμωξης θα πρέπει να καθοριστεί η συγκέντρωση αντισωμάτων σε 2 δείγματα ορού. Ένα δείγμα ορού θα πρέπει να ελεγχθεί αμέσως μετά την έναρξη της λοίμωξης και ένα δεύτερο μετά από 5-10 ημέρες (λήψη ορού κατά τη φάση ανάρρωσης). Η συγκέντρωση αντισωμάτων των δύο δειγμάτων πρέπει να καθοριστεί ταυτόχρονα, δηλ. σε μία εκτέλεση της δοκιμασίας. Για την ορθή διάγνωση δεν αρκεί η αξιολόγηση ενός και μόνο δείγματος ορού. Για την επίτευξη της υψηλότερης ευαισθησίας πρέπει να μετρηθούν και οι 3 κατηγορίες αντισωμάτων IgG, IgM και IgA, διότι ορισμένοι ασθενείς δεν αναπτύσσουν IgM αντισώματα.
- Εάν οι μετρημένες τιμές βρίσκονται κάτω από το καθορισμένο οριακό εύρος, το δείγμα δεν περιέχει μετρήσιμα, ειδικά για το αντιγόνο αντισώματα. Τα δείγματα θεωρούνται αρνητικά

8.4 Πίνακας ερμηνείας

IgG	IgA	IgM	Ερμηνεία
-	-	-	Καμία επαφή με <i>Mycoplasma pneumoniae</i> ή τα επίπεδα των αντισωμάτων κατήλθαν κάτω του ορίου ανίχνευσης
-	+	+	Πολύ πρόωμη φάση οξείας λοίμωξης ή εκ νέου λοίμωξης
-	+	-	Πολύ πρόωμη φάση οξείας λοίμωξης. Είτε πρωτογενής λοίμωξη είτε εκ νέου λοίμωξη χωρίς IgM ή οι τίτλοι IgM αναμένονται.
+	+	+	Οξεία λοίμωξη, συνήθως όψιμη φάση πρώτης λοίμωξης, IgG και IgM αναπτύχθηκαν ήδη, το IgA δεν κατέλθε ακόμη
+	-	+	Οξεία λοίμωξη, συνήθως όψιμη φάση πρωτογενούς λοίμωξης, IgG και IgM αναπτύχθηκαν ήδη, το IgA έχει κατέλθει
+	+	-	Ιδιαίτερα όψιμη φάση εκ νέου λοίμωξης, IgA δεν έχουν σχηματιστεί ακόμη, δεν υπάρχει πλέον IgM ή επανενεργοποίηση λοίμωξης χωρίς σχηματισμό IgM
+	-	-	Ιδιαίτερα όψιμη φάση εκ νέου λοίμωξης, τα IgA κατήλθαν ήδη ή δεν σχηματίστηκαν καθόλου (συμβαίνει σε ορισμένους ενήλικες) ή επανενεργοποίηση λοίμωξης ή λοίμωξη χωρίς σχηματισμό IgM ή παραμένων τίτλος IgG παρελθούσας λοίμωξης
-	-	+	Πρώιμη οξεία λοίμωξη, το IgA δεν είναι ακόμη ανιχνεύσιμο ή έχει ήδη κατέλθει, υπερβολικά χαμηλός τίτλος IgG.

Σημαντική υπόδειξη: Η πιθανότητα λήψης ψευδών θετικών αποτελεσμάτων IgA ή IgM δεν μπορεί να αποκλειστεί τελείως. Για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων, συνιστάται ο έλεγχος του τίτλου IgG εντός 5-10 ημερών ή η διενέργεια ανοσοσύτωσης (LINE).

8.5 Περιορισμοί της δοκιμασίας

- Για την ερμηνεία αποτελεσμάτων ορολογικών εξετάσεων πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η κλινική εικόνα, τα επιδημιολογικά στοιχεία και άλλα, τυχόν διαθέσιμα αποτελέσματα εργαστηριακών εξετάσεων
- Είναι δύσκολο να διαφοροποιηθεί μια λοίμωξη με *Mycoplasma* από άλλες λοιμώξεις του ανώτερου ή κατώτερου αναπνευστικού, ή άτυπες πνευμονίες, παρά την επισκόπηση του ιστορικού και την κλινική εξέταση, συμπεριλαμβανομένων των τυπικών εργαστηριακών αναλύσεων και των ακτινολογικών εξετάσεων. Στις ασαφείς περιπτώσεις ή παρουσία επίμονων συμπτωμάτων, εάν τα αποτελέσματα είναι αρνητικά, συνιστούμε, εκτός από τις οροδιαγνωστικές εξετάσεις, η διάγνωση να υποστηρίζεται από μοριακή βιολογική ανάλυση.
- Δεν μπορούν να αποκλειστούν διασταυρούμενες αντιδράσεις με τα *M. genitalium* ή *M. hominis*. Διασταυρούμενη αντίδραση ενδέχεται να παρουσιάσουν και οροί θετικοί στον ιό EBV.

9. Βιβλιογραφία

1. Clyde WA.J.: Clinical overview of typical *Mycoplasma pneumoniae* infections. J. Clin Infect. Dis. 1993, 17 (suppl. 1) 32-37
2. Hu, P.-C., Collier, A.M. and Baseman, J.B. (1977): Surface parasitism by *Mycoplasma pneumoniae* of respiratory epithelium. J. of Experimental med. 145, 1328-13343.
3. Razin, S. (1992): Peculiar properties of mycoplasmas: the smallest self-replicating prokaryotes. FEMS Microbiol. Lett. 100, 423-432.
4. Taylor-Robinson, D. (1996): Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: an update. Clin. Infect. Dis. 23, 671-684.
5. Jacobs, E.: Mycoplasmen-Infektionen. mta. 1997, 12: 236-239
6. Jacobs, E.: Das Adhäsion von *Mycoplasma pneumoniae*: Seine Bedeutung als Virulenzfaktor in der Pathogenese und in der Diagnostik. Klin. Lab. 1994: 40: 228-229
7. Dumke, R., A. Strubel, C. Cyncynatus, H. Nuytens, R. Herrmann, C. Lück, and E. Jacobs. 2012. Optimized serodiagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections. Diagnostic microbiology and infectious disease. Elsevier Inc. 73:200-203.
8. Foy, HM: Infections caused by *Mycoplasma pneumoniae* and possible carrier state in different populations of patients. J Clin Infect Dis 1993, 17(suppl. 1) 37-47.
9. Baum, H. v. et.al.: *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia revisited within the German Competence Network for Community-acquired pneumonia (CAPNETZ), BMC Infectious Diseases 2009, 9:62

Προετοιμασία δειγμάτων ασθενούς και διαλύματος πλύσης

▼ **Διάλυμα πλύσης:** Συμπλήρωση συμπυκνώματος με απιον./απεστ. νερό έως το 1 λίτρο

▼ **Αραίωση Δείγματα IgG/IgA**
1:101

π.χ.:
10 μl ορού/πλάσμα + 1000 μl ρυθμιστικού διαλύματος
αραίωσης
(το ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης είναι έτοιμο για χρήση)

▼ **Αραίωση Δείγματα IgM**
1:101

**Απορρόφηση ρευματοειδών παραγόντων
με RF-SorboTech**

π.χ.:
5 μl ορού/πλάσμα + 450 μl ρυθμιστικού διαλύματος
αραίωσης +
1 σταγόνα RF-SorboTech: επώαση σε θερμ. δωματίου για
15 min

Εκτέλεση δοκιμασίας

