

# CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE ELISA IgG

Producto para diagnóstico *In vitro*

**G1007:** Prueba inmunoenzimática indirecta para la detección y semicuantificación de anticuerpos IgG frente a *Chlamydophila pneumoniae* en suero/plasma humano. 96 tests.

## INTRODUCCIÓN:

Chlamydia tiene gran capacidad para producir infección respiratoria, especialmente bronquitis y neumonía. Las especies más implicadas en la producción de enfermedades respiratorias son *Chlamydophila psittaci* y *Chlamydophila pneumoniae*. La mayor incidencia se presenta en personas mayores y se le considera responsable de un 10% de todas las neumonías, aunque para algunos, es la causa más frecuente del total de casos en los que se consigue conocer la etiología. *C. pneumoniae* se asocia a la aparición de enfermedad ateromatosa y al infarto de miocardio. La seroprevalencia a *C. pneumoniae* es baja en niños pero puede ser superior al 50% en adultos. En la primoinfección suele aparecer IgM de forma más precoz que la IgG y en las reinfecciones es infrecuente la aparición de IgM, pero la seroconversión de IgG es más precoz. En la prueba se utiliza como antígeno COMP (complexes of outer membrane proteins) de *C. pneumoniae*, eliminando el LPS responsable de la mayor parte de las reacciones cruzadas con otras Chlamydias.

## FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Método de ELISA basado en la reacción de los anticuerpos de la muestra con el antígeno unido a la superficie de poliestireno. Las inmunoglobulinas no unidas por reacción con el antígeno son eliminadas en el proceso de lavado. En un paso posterior la globulina anti-humana reacciona con el complejo antígeno-anticuerpo, y la que no se une es eliminada por los lavados, la unida reacciona con el sustrato (TMB), para dar una reacción coloreada azul, que cambia a amafillo tras la adición de la solución de parada.

## CARACTERÍSTICAS:

Todos los reactivos a excepción de la solución de lavado vienen listos para su uso.

Las soluciones de dilución de muestras y de conjugado están coloreadas como ayuda a la realización de la técnica.

No se precisa dilución previa de la muestra.

Los pocillos son individuales, por lo que solo se consumen tantos pocillos como pruebas se van a realizar.

## CONTENIDO DEL KIT:

**1** VIRCELL CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE PLATE: 1 placa con 96 pocillos recubiertos con antígenos purificados (Complexes of Outer Membrane Proteins) de *C. pneumoniae*, cepa CM-1 (ATCC VR-1360).

**2** VIRCELL SERUM DILUENT: 25 ml de diluyente para sueros: tampón fosfatos con estabilizante de proteínas, con Neolone y Bronidox y coloreado de azul. Listo para su uso.

**3** VIRCELL IgG POSITIVE CONTROL: 500 µl de suero control positivo con Neolone y Bronidox.

**4** VIRCELL IgG CUT OFF CONTROL: 500 µl de suero cut off con Neolone y Bronidox.

**5** VIRCELL IgG NEGATIVE CONTROL: 500 µl de suero control negativo con Neolone y Bronidox.

**6** VIRCELL IgG CONJUGATE: 15 ml de una dilución de globulina anti-IgG humana conjugada con peroxidasa, con Neolone y Bronidox y coloreada de naranja. Lista para su uso.

**7** VIRCELL TMB SUBSTRATE SOLUTION: 15 ml de solución de sustrato: tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.

**8** VIRCELL STOP REAGENT: 15 ml de solución de parada: ácido sulfúrico 0,5 M.

**9** VIRCELL WASH BUFFER: 50 ml de solución de lavado (concentrado 20x): tampón fosfatos con Tween<sup>R</sup>-20 y con Proclin 300.

**10** VIRCELL IgG STANDARD I: 1,8 ml de control de semicuantificación conteniendo 10 U, con Neolone y Bronidox.

**11** VIRCELL IgG STANDARD II: 1,8 ml de control de semicuantificación conteniendo 50 U, con Neolone y Bronidox.

**12** VIRCELL IgG STANDARD III: 1,8 ml de control de semicuantificación conteniendo 100 U, con Neolone y Bronidox.

**Conservar entre 2 y 8°C y comprobar la fecha de caducidad.**

## Material necesario no contenido en el kit:

-Pipeta de precisión para dispensar 5 y 100 µl.

-Pipeta multicanal de precisión para dispensar 100 µl.

-Lavador de placas de ELISA.

-Incubador/baño termostatzado.

-Espectrofotómetro de placas de ELISA con filtro de 450 nm y filtro de referencia de 620 nm.

-Agua destilada.

-Alternativamente procesador automático de ELISA.

-Microplacas o tubos para predilución de muestras (para ensayos semicuantitativos).

## CONSERVACIÓN:

Conservar entre 2 y 8°C. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La caducidad indicada será válida siempre que los componentes se mantengan cerrados y conservados entre 2 y 8°C.

## CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS COMPONENTES UNA VEZ ABIERTOS:

Componente	Estabilidad
Solución de lavado diluida (1x)	4 meses a 2-8°C
Resto de componentes	Fecha indicada en envase a 2-8°C

## ESTABILIDAD Y USO DE LOS REACTIVOS:

Usar todos los reactivos en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas.

No permitir el secado de la placa entre los lavados y la adición de los reactivos.

La solución de sustrato es fotosensible. Evitar la exposición directa a la luz y desechar si presenta coloración azul. La solución de sustrato no debe entrar en contacto con oxidantes como soluciones de hipoclorito ni con algunos metales. Evitar el contacto con partes metálicas o componentes metálicos de equipos o instrumentos sin antes haber comprobado su compatibilidad.

Utilizar solo la cantidad de solución de lavado, sustrato, diluyente de sueros y conjugado necesarias para la realización de la prueba. No devolver a los viales el exceso sobrante.



VIRCELL, S.L. no se responsabiliza de la inadecuada utilización de los reactivos contenidos en el kit.

#### RECOMENDACIONES Y PRECAUCIONES:

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.
2. Usar solo componentes del kit. No mezclar los componentes de diferentes kits o fabricantes. Solo las soluciones de lavado, sustrato, parada y diluyente de sueros son compatibles con los equivalentes en otras referencias y lotes de ELISA VIRCELL.
3. Utilizar puntas de pipeta diferentes y limpias para cada fase del ensayo. Utilizar solo material limpio y preferentemente desechable.
4. No utilizar en caso de deterioro del envase.
5. No pipetear con la boca.
6. El diluyente para sueros, placa, conjugados y controles de este equipo contienen material de origen animal. Los controles contienen además material de origen humano. Aunque los sueros control del equipo son sometidos a controles de ausencia de HBsAg y anticuerpos frente a VIH y Hepatitis C, es necesario manejar los controles y muestras del paciente como potencialmente patógenos. Los pocillos contienen antígeno inactivado, no obstante, deben manejarse con precaución. Ningún método actual puede asegurar por completo la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos. Todo el material debe ser manipulado y desechado como potencialmente infeccioso. Observe la regulación local en materia de residuos clínicos.
7. Para la utilización del producto en sistemas automáticos de análisis se recomienda una evaluación previa. VIRCELL dispone de juegos de muestras para su ensayo en paralelo con el método manual. Estos juegos pueden ser solicitados con tal finalidad. Asimismo, es posible la consulta de un listado de sistemas automatizados aprobados para su utilización con la gama de productos ELISA VIRCELL.
8. Durante los períodos de incubación, un adecuado sellado de las placas con la lámina adhesiva que se suministra evita la desecación de la muestra y garantiza la repetitividad de la muestra.
9. Evitar el contacto de la solución de parada (ácido sulfúrico 0,5 M) con la piel o los ojos. En caso de contacto, lavar la zona inmediatamente con agua.
10. Proclin 300 está incluido como conservante en la solución de lavado. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. En caso de contacto con la piel lavar con agua y jabón abundantes. Para más información, solicite la hoja de información del producto.

#### TOMA DE MUESTRA:

La sangre debe extraerse en condiciones asépticas mediante técnicas de venipuntura por personal experimentado. Se recomienda el uso de técnicas asépticas o estériles para evitar la contaminación de la muestra. Los sueros/plasmas deben mantenerse refrigerados entre 2 y 8°C si se van a procesar dentro de los 7 días siguientes a la toma, pero si el procesamiento se va a prolongar deben congelarse a -20°C, evitando las congelaciones y descongelaciones innecesarias. No utilizar muestras hiperlipémicas, hemolizadas o contaminadas. Las muestras que presenten partículas pueden ser clarificadas por centrifugación. Pueden utilizarse muestras de suero o plasma indistintamente.

#### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

El único reactivo que es necesario preparar con antelación a la realización de la prueba es la solución de lavado. Para ello completar hasta 1 litro con agua destilada un vial de 50 ml de solución de lavado concentrada (20x). Si aparecen cristales durante la conservación de la solución concentrada, calentar a 37°C antes de diluirlo. Una vez preparada conservar entre 2 y 8°C.

#### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

##### CUALITATIVO:

1. Ajustar una estufa/baño de agua a 37±1°C.
2. Sacar todos los reactivos 1 hora antes de la realización del test para que alcancen la temperatura ambiente, evitando sacar la placa del envase.
3. Agitar todos los componentes.
4. Sacar el número de pocillos **1** necesarios para el número de muestras que se van a procesar, más otros cuatro pocillos, uno para el control positivo, uno para el control negativo y dos para el suero cut off. Colocar el resto de los pocillos en el sobre y volver a cerrarlo.
5. Añadir 100 µl de diluyente de muestras **2** a todos los pocillos que se vayan a emplear. Añadir 5 µl de las muestras, 5 µl del control positivo **3**, 5 µl del suero cut off **4** (en duplicado), y 5 µl del control negativo **5** en los pocillos correspondientes. En el caso de la realización manual del método, se agitará la placa en un agitador (2 minutos) para garantizar una mezcla homogénea de los reactivos. Si no es posible asegurar esta agitación, debe hacerse una predilución de la muestra en tubo o placa añadiendo el doble del volumen de diluyente de muestras **2** y de muestra. Homogenizar con la pipeta y trasvasar seguidamente 105 µl de cada muestra ya diluida a los pocillos **1**.
6. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 45 minutos a 37±1°C.
7. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado **9**, asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.
8. Añadir inmediatamente 100 µl de conjugado IgG **6** a todos los pocillos.
9. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 30 min. a 37±1°C.
10. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado **9**, asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.
11. Añadir inmediatamente 100 µl de solución de sustrato **7** a todos los pocillos.
12. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos, en la oscuridad.
13. Añadir inmediatamente 50 µl de solución de parada **8** a todos los pocillos.
14. Valorar espectrofotométricamente a 450/620 nm, antes de 1 hora de acabado el ensayo.

##### SEMICUANTITATIVO:

1. Ajustar una estufa/baño de agua a 37±1°C.
2. Sacar todos los reactivos 1 hora antes de la realización del test para que alcancen la temperatura ambiente, evitando sacar la placa del envase.
3. Agitar todos los componentes.



4. Sacar el número de pocillos **1** necesarios para el número de muestras que se van a procesar, más otros seis pocillos, para los controles de semicuantificación por duplicado. Colocar el resto de los pocillos en el sobre y volver a cerrarlo.
5. Realizar en tubos aparte una dilución 1/20 de los sueros, para ello poner 5 µl de suero en 95 µl de diluyente de muestras **2**, y rotular como dilución 1/20.
6. Añadir 90 µl de diluyente de muestras **2** a todos los pocillos que se vayan a emplear, excepto a los de los controles de semicuantificación. Añadir 10 µl de las diluciones 1/20 de las muestras (dilución final 1/200). Añadir 100 µl de cada control de semicuantificación (por duplicado) en los correspondientes pocillos (los controles de semicuantificación están listos para uso, no necesitan predilución).
7. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 45 minutos a 37±1°C.
8. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado **9**, asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.
9. Añadir inmediatamente 100 µl de conjugado IgG **6** a todos los pocillos.
10. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 30 min. a 37±1°C.
11. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado **9**, asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.
12. Añadir inmediatamente 100 µl de solución de sustrato **7** a todos los pocillos.
13. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos, en la oscuridad.
14. Añadir inmediatamente 50 µl de solución de parada **8** a todos los pocillos.
15. Valorar espectrofotométricamente a 450/620 nm, antes de 1 hora de acabado el ensayo.

#### CONTROL DE CALIDAD INTERNO:

Cada lote se somete a control de calidad interno antes de su liberación asegurando el cumplimiento del protocolo de validación por el usuario mediante especificaciones más estrictas. Los resultados de control final de cada lote están disponibles.

La correlación del material de control se asegura mediante ensayos paralelos frente a paneles de sueros de referencia internamente validados.

#### PROTOCOLO DE VALIDACIÓN POR EL USUARIO:

##### CUALITATIVO

Cada ensayo debe utilizar control positivo, negativo y cut off. Su utilización permite la validación de la prueba y el equipo.

Las densidades ópticas (D.O.) de los controles deben estar en los rangos siguientes. En caso contrario se desechará la prueba.

Control	D.O.
Control positivo	>0,9
Control negativo	<0,5
Control cut off	>0,55
	<1,5

##### SEMICUANTITATIVO

R<sup>2</sup> de la gráfica de calibración debe ser >95%, en caso contrario el ensayo será inválido y habrá de repetirse.

#### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

##### CUALITATIVO

Calcular la media de las D.O. del suero cut off.

**Índice de anticuerpos= (D.O. de la muestra / media de D.O. del suero cut off) x10**

Índice	Interpretación
<9	Negativo
9-11	Dudoso
>11	Positivo

Las muestras con resultados dudosos deben ser vueltas a analizar y/o solicitar una nueva muestra para confirmación de los resultados.

Las muestras con índices inferiores a 9 se considera que no tienen anticuerpos específicos frente a *C. pneumoniae* de tipo IgG.

Las muestras con índices superiores a 11 se considera que tienen anticuerpos específicos frente a *C. pneumoniae* de tipo IgG.

##### SEMICUANTITATIVO

Para estimar la concentración de anticuerpo específico presente en la muestra es necesario realizar una gráfica de calibración usando un programa adecuado o bien un papel milimetrado. En el eje de la Y se representarían las unidades de los controles semicuantitativos y en el eje de la X la media de las D.O. correspondientes. Para ello, los controles de semicuantificación han de incluirse en cada ensayo por duplicado. La línea resultante obtenida manualmente o con un programa adecuado permitirá asignar las unidades correspondientes de la muestra conociendo su D.O..

Los títulos equivalentes se pueden obtener con las unidades calculadas y la siguiente tabla:

Unidades	Título
<10	Negativo
10-30	1/64
30-50	1/128
50-80	1/256
>80	≥1/512

#### LIMITACIONES DEL MÉTODO:

1. Este método está diseñado para ser utilizado con suero/plasma humano.
2. El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables, en particular el correcto pipeteo de muestras y reactivos, lavados y tiempos de incubación.
3. Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos. El diagnóstico definitivo debe realizarse mediante técnicas de aislamiento.
4. El test no indica el lugar de la infección. No pretende sustituir al aislamiento.
5. La ausencia de un aumento significativo en el nivel de anticuerpos no excluye la posibilidad de infección.
6. Las muestras recogidas muy pronto en el transcurso de una infección pueden no tener niveles detectables de IgG. En esos casos se recomienda realizar un ensayo para determinación de IgM u obtener una segunda muestra transcurridos entre 14 y 21 días, para ser ensayado en paralelo con la muestra original con el fin de determinar una seroconversión.



7. Los resultados obtenidos en la detección de IgG en neonatos deben ser interpretados con precaución, ya que las IgG maternas son transferidas pasivamente de la madre al feto antes del nacimiento. La determinación de IgM es mejor indicador de infección en niños menores de 6 meses.

8. Los resultados de determinación de anticuerpos de una muestra única no deben ser usados para el diagnóstico de una infección reciente. Se deben recoger muestras pareadas (aguda y convaleciente) para ser ensayadas paralelamente y determinar seroconversión o un incremento significativo en el nivel de anticuerpos.

9. Los datos serológicos deben ser valorados en el contexto clínico del enfermo para llegar a un adecuado diagnóstico. En la infección primaria por *C. pneumoniae* se suele encontrar aparición de IgM, y a las 3-6 semanas del comienzo de la enfermedad niveles de IgG elevados. Por el contrario, generalmente en la reinfección la respuesta de IgM no se presenta y se produce una rápida elevación de los niveles de IgG e IgA. La seroprevalencia a *C. pneumoniae* es alta en adultos y por tanto la presencia de anticuerpos no es indicativa de infección reciente. La titulación de las muestras positivas por microinmunofluorescencia puede ayudar a confirmar el diagnóstico. Esta prueba no está diseñada para medir el estado inmune frente a *C. pneumoniae*, sino para detectar niveles de anticuerpos frente a esta infección.

10. No se ha evaluado el grado de reacción cruzada de este ensayo con muestras positivas de *C. psittaci* debido a su baja prevalencia y la carencia de muestras.

11. No se ha evaluado la validez de este ensayo para el seguimiento del tratamiento.

12. Ensayos de ELISA a dilución única no presentan una relación lineal con títulos detectados por inmunofluorescencia.

13. No se ha evaluado el rendimiento de la técnica en enfermedades producidas por *C. pneumoniae* diferentes a neumonía.

14. El ensayo semicuantitativo se basa en la equivalencia con el equipo CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE IFA IgG de VIRCELL. La correlación con títulos correspondientes a otros equipos de IFA comerciales no ha sido testado.

15. Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos.

## PRESTACIONES

### • SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:

#### CUALITATIVO

Se ensayaron 178 muestras de suero/plasma con CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE ELISA IgG frente a un test de inmunofluorescencia, obteniendo los siguientes resultados:

	Nº muestras	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
IgG	178	100	83
95% C.I.		88-97	91-100

C.I. Intervalo de confianza

Los valores indeterminados fueron excluidos de los cálculos finales.

### • CORRELACIÓN:

#### SEMICUANTITATIVO

Se ensayaron 88 muestras de suero/plasma con CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE ELISA IgG frente a CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE IFA IgG, obteniendo los siguientes resultados:

		ELISA VIRCELL (Títulos equivalentes)					
		NEGATIVO	64	128	256	512	Total
IFA VIRCELL (Títulos)	<32	23	1				24
	32	6	2	1			9
	64	1	4	7	1		13
	128		2	13	4	1	20
	256				6	3	9
	512				4	8	12
	1024					1	1
	Total	30	9	21	15	13	88

### • PRECISIÓN INTRAENSAYO:

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente 10 veces cada uno en un único ensayo realizado por el mismo operador en condiciones de trabajo idénticas, obteniendo los resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	2,43
CN	10	11,60
CO	10	4,27

C.V. Coeficiente de variación

### • PRECISIÓN INTERENSAYO:

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente durante 5 días consecutivos y por 2 operadores diferentes, obteniendo los siguientes resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	3,07
CN	10	12,49
CO	10	5,18

C.V. Coeficiente de variación

### • REACCIÓN CRUZADA E INTERFERENCIAS:

Se ensayaron 22 muestras caracterizadas positivas frente a bacterias del grupo sindrómico (*Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii* y *Mycoplasma pneumoniae*), *Rickettsia conorii* y *Chlamydia trachomatis*.

Las muestras ensayadas dieron resultados negativos, demostrando la reacción específica del ensayo sin reacción cruzada o interferencias ocasionadas por los agentes descritos.

### SÍMBOLOS UTILIZADOS EN EL PRODUCTO:

	Producto para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fecha de caducidad
	Conservar entre x-y°C
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	Lote
	Referencia (catálogo)
	Consultar instrucciones de uso
	<X> pocillos



**BIBLIOGRAFÍA:**

1. Almirall, J., I. Morato, F. Riera, A. Verdager, R. Priu, P. Coll, J. Vidal, L. Murgui, F. Valls, F. Catalan, and a. I. et. 1993. Incidence of community-acquired pneumonia and *Chlamydia pneumoniae* infection: a prospective multicentre study. *Eur Respir J* 6:14-8.
2. Bas, S., P. Muzzin, B. Ninet, J. E. Bornand, C. Scieux, and T. L. Vischer. 2001. Chlamydial serology: comparative diagnostic value of immunoblotting, microimmunofluorescence test, and immunoassays using different recombinant proteins as antigens. *J Clin Microbiol* 39:1368-77.
3. Black, C. M., J. E. Johnson, C. E. Farshy, T. M. Brown, and B. P. Berdal. 1991. Antigenic variation among strains of *Chlamydia pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 29:1312-6.
4. Ekman, M. R., M. Leinonen, H. Syrjala, E. Linnanmaki, P. Kujala, and P. Saikku. 1993. Evaluation of serological methods in the diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* pneumonia during an epidemic in Finland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12:756-60.
5. Everett, K. D., R. M. Bush, and A. A. Andersen. 1999. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Bacteriol* 49 Pt 2:415-40.
6. Freidank, H. M., H. Vogeles, and K. Eckert. 1997. Evaluation of a new commercial microimmunofluorescence test for detection of antibodies to *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, and *Chlamydia psittaci*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 16:685-8.
7. Gutierrez, J., J. Mendoza, F. Fernandez, J. Linares-Palomino, M. J. Soto, and M. C. Maroto. 2002. ELISA test to detect *Chlamydia pneumoniae* IgG. *J Basic Microbiol* 42:13-8.
8. Heiskanen-Kosma, T., M. Korppi, C. Jokinen, S. Kurki, L. Heiskanen, H. Juvonen, S. Kallinen, M. Sten, A. Tarkiainen, P. R. Ronnberg, M. Kleemola, P. H. Makela, and M. Leinonen. 1998. Etiology of childhood pneumonia: serologic results of a prospective, population-based study. *Pediatr Infect Dis J* 17:986-91.
9. Jauhiainen, T., T. Tuomi, M. Leinonen, J. D. Kark, and P. Saikku. 1994. Interference of immunoglobulin G (IgG) antibodies in IgA antibody determinations of *Chlamydia pneumoniae* by microimmunofluorescence test. *J Clin Microbiol* 32:839-40.
10. Kauppinen, M. and P. Saikku. 1995. Pneumonia due to *Chlamydia pneumoniae*: prevalence, clinical features, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis* 21 Suppl 3:S244-52.
11. Kuo, C. C., L. A. Jackson, L. A. Campbell, and J. T. Grayston. 1995. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev* 8:451-61.
12. Ladany, S., C. M. Black, C. E. Farshy, J. M. Ossewaarde, and R. C. Barnes. 1989. Enzyme immunoassay to determine exposure to *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR). *J Clin Microbiol* 27:2778-83.
13. Numazaki, K., T. Ikebe, and S. Chiba. 1996. Detection of serum antibodies against *Chlamydia pneumoniae* by ELISA. *FEMS Immunol Med Microbiol* 14:179-83.
14. Steinhoff, D., H. Lode, G. Ruckdeschel, B. Heidrich, A. Rolfs, F. J. Fehrenbach, H. Mauch, G. Hoffken, and J. Wagner. 1996. *Chlamydia pneumoniae* as a cause of community-acquired pneumonia in hospitalized patients in Berlin. *Clin Infect Dis* 22:958-64.
15. Thom, D. H., J. T. Grayston, L. A. Campbell, C. C. Kuo, V. K. Diwan, and S. P. Wang. 1994. Respiratory infection with *Chlamydia pneumoniae* in middle-aged and older adult outpatients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13:785-92.

Para cualquier aclaración o consulta, contactar con:  
[customerservice@vircell.com](mailto:customerservice@vircell.com)

**REVISADO: 2018-06-28**  
**L-G1007-ES-01**

