

# CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE ELISA IgG



G1007



Für die *In-vitro*-Diagnostik

## ZWECKBESTIMMUNG

Indirekter Enzymimmunoassay zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Chlamydomphila pneumoniae* in humanem Serum/Plasma.

Bei diesem Test handelt es sich um einen manuellen oder auch automatischen, qualitativen/quantitativen Test zur Diagnosehilfe.

## EINLEITUNG

Chlamydien besitzen ein hohes Potential, Infektionen des Respirationstraktes, besonders Bronchitis und Pneumonie, zu verursachen. Die vorwiegend an respiratorischen Krankheiten beteiligten Spezies sind *Chlamydomphila psittaci* und *Chlamydomphila pneumoniae*. Die höchste Inzidenz findet man bei älteren Menschen, bei denen 10% aller Pneumonien durch Chlamydien verursacht werden. Manche Autoren sehen sie als die häufigste Ursache bei Pneumonien mit bekannter Ätiologie. *C. pneumoniae* wird mit dem Auftreten von Atherosklerose und Myokardinfarkt assoziiert. Die Seroprävalenz zu *C. pneumoniae* ist bei Kindern niedrig, kann bei Erwachsenen jedoch bei über 50% liegen. Bei der Primärinfektion tritt gewöhnlich IgM früher als IgG auf. Bei Reinfektionen ist das Auftreten von IgM selten, die Serokonversion von IgG erfolgt jedoch frühzeitiger. Im Test wird als Antigen COMP (complexes of outer membrane proteins) von *C. pneumoniae* verwendet, wobei das für die Mehrzahl der Kreuzreaktionen mit anderen Chlamydien verantwortliche LPS entfernt wurde.

## PRÜFGRUNDSATZ

Die ELISA Methode basiert auf der Reaktion von Antikörpern in der Probe mit dem auf der Polystyrol-Oberfläche der Titerplatte adsorbierten Antigen. Ungebundene Immunglobuline werden durch Waschen entfernt. Ein Enzym-markiertes anti-human-Globulin bindet in einem zweiten Schritt an den Antigen-Antikörper-Komplex. Nach einem erneuten Waschschrift entsteht durch Inkubation des gebundenen Konjugates mit der Substratlösung (TMB) ein blau gefärbtes, lösliches Produkt, das nach Zugabe der Stopplösung (Säure) eine gelbe Färbung annimmt.

## EIGENSCHAFTEN DES KITS

Alle Reagenzien, außer der Waschlösung, sind gebrauchsfertig.

Serumverdünnungspuffer und Konjugat sind gefärbt, um die Abarbeitung des Kits zu erleichtern.

Eine Probenverdünnung ist nicht notwendig.

Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte sind einzeln abtrennbar.

## MITGELIEFERTER MATERIALIEN

[1] VIRCELL CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE PLATE: 1 Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen, beschichtet mit gereinigten Antigenen (Complexes of Outer Membrane Proteins) von *Chlamydomphila pneumoniae*. Enthält inaktiviertes Antigen. Enthält Material tierischen Ursprungs.

[2] VIRCELL SERUM DILUENT: 25 ml Serumverdünnungspuffer: blau-gefärbter Phosphat-Puffer enthält Proteindestabilisatoren. Enthält 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Enthält Material tierischen Ursprungs. Gebrauchsfertig.

[3] VIRCELL IgG POSITIVE CONTROL: 500 µl Positiv-Kontrollserum. Enthält 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.

[4] VIRCELL IgG CUT OFF CONTROL: 500 µl Cutoff-Kontrollserum. Enthält 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.

[5] VIRCELL IgG NEGATIVE CONTROL: 500 µl Negativ-Kontrollserum. Enthält 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.

[6] VIRCELL IgG CONJUGATE: 2 x 7,5 ml anti-human IgG Peroxidase-Konjugat. Orange gefärbter Puffer. Enthält 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Enthält Material tierischen Ursprungs. Gebrauchsfertig.

[7] VIRCELL TMB SUBSTRATE SOLUTION: 15 ml Substratlösung, enthält Tetramethylbenzidin (TMB) und 2-Pyrolidinon. Gebrauchsfertig.

[8] VIRCELL STOP REAGENT: 15 ml Stopplösung; 0,5 M Schwefelsäure.

[9] VIRCELL WASH BUFFER (20x): 50 ml 20x Waschlösung: Phosphatpuffer, enthält Tween®-20 und Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

[10] VIRCELL IgG STANDARD I: 1,8 ml Semiquantifizierungskontrolle, 10 U. enthalten sind. Enthält 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.

[11] VIRCELL IgG STANDARD II: 1,8 ml Semiquantifizierungskontrolle, 50 U. enthalten sind. Enthält 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.

[12] VIRCELL IgG STANDARD III: 1,8 ml Semiquantifizierungskontrolle, 100 U. enthalten sind. Enthält 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.

## Spezielle Materialien, die benötigt, aber nicht mitgeliefert werden:

-Präzisionsmikropipetten.

-ELISA-Platten-Washer.

-Inkubator/temperierbares Bad.

-Spektrophotometer für ELISA-Platten mit 450 nm Filter und 620 nm Referenzfilter.

-Als Alternative automatischer ELISA-Prozessor.

-Destilliertes Wasser.

-Mikroküvetten oder -röhrchen zum Vorverdünnen der Proben (für semiquantitative Assays).

## LAGERUNGS- UND HANDHABUNGSBEDINGUNGEN

Bei 2-8°C lagern. Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums einsetzen. Das Verfallsdatum der Reagenzien ist nur gültig bei Lagerung in gut verschlossenem Zustand bei 2-8°C.

## HALTBARKEIT NACH ANBRUCH

VIRCELL WASH BUFFER verdünnt (1x): 4 Monate bei 2-8°C.

Restliche Reagenzien: Siehe Verfallsdatum auf der Packung (bei 2-8°C).

Die Substratlösung ist lichtempfindlich. Vor Lichteinstrahlung schützen, Lösung nicht mehr einsetzen, wenn eine Blaufärbung während der Lagerung eingetreten ist. Kontakt der Substratlösung mit Oxidationsmitteln (Bleichlösungen, Metallen) vermeiden. Vergewissern Sie sich, dass keine Metallkomponenten in Kontakt mit der Substratlösung kommen.

VIRCELL, S.L. ist nicht verantwortlich für Fehler, die durch eine falsche Handhabung der Reagenzien dieses Kits verursacht wurden.

## WARNUNGEN UND VORSICHTSHINWEISE

1. Einsatz ausschließlich für *in-vitro* diagnostische Zwecke. Nur für den professionellen Einsatz.

2. Das Produkt sollte auf Personal begrenzt werden, das in der Technik geschult wurde.

3. Dem Anwender des Tests wird empfohlen, diese Gebrauchsanleitung vor der Testdurchführung sorgfältig zu lesen und die einzelnen Schritte nachzuvollziehen. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung ist notwendig.

4. Verwenden Sie nur die in dieser Broschüre beschriebenen Protokolle. Wenn die Bedingungen nicht den Angaben entsprechen, sind die Ergebnisse möglicherweise falsch.

5. Tragen Sie beim Umgang mit Proben und Reagenzien persönliche Schutzausrüstung. Waschen Sie Ihre Hände beim Umgang mit Proben und Reagenzien gründlich. Alle Verfahren müssen in Übereinstimmung mit den genehmigten Sicherheitsstandards durchgeführt werden.

6. Für jeden Testschritt neue Pipettenspitzen verwenden. Nur sauberes, vorzugsweise Einweg-Material verwenden.

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.

8. Keine beschädigten Kits verwenden.

9. Verwenden Sie das Kit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr.

10. Wenn der Test oder seine Elemente im Kühlschrank aufbewahrt werden, müssen sie vor der Verwendung Raumtemperatur haben.

11. Lassen Sie die Reagenzien nicht länger als unbedingt erforderlich auf einer anderen Temperatur als empfohlen.

12. Halten Sie Behälter für Proben und Reagenzien geschlossen, wenn diese nicht bearbeitet werden.

13. Vermeiden Sie die Verwendung von Proben, die wiederholten Gefrier-Auftau-Zyklen ausgesetzt sind.

14. Verwenden unter aseptischen Bedingungen, um eine mikrobielle Kontamination zu vermeiden.

15. Das Reagenz in diesem Kit könnte Substanzen tierischen Ursprungs und/oder humanen Ursprungs und/oder inaktiviertes Antigen enthalten (siehe „Mitgelieferte Materialien“). Obwohl Material menschlichen Ursprungs auf Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg), Hepatitis C-Antikörper und Human Immunodeficiency Virus-Antikörper getestet und für negativ befunden wurde, sollten alle Patientenmaterialien und -proben als potenziell infektiös gehandhabt

werden und unter Verwendung von Sicherheitslaborverfahren beseitigt werden. Keine aktuelle Methode kann eine vollständige Garantie dafür bieten, dass diese oder andere infektiöse Erreger nicht vorhanden sind. Nicht verwendete Reagenzien und Abfälle gemäß den behördlichen Vorschriften entsorgen.

16. Nur Kit-Bestandteile verwenden. Reagenzien aus Kits unterschiedlicher Chargennummer oder von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden. Nur VIRCELL WASH BUFFER, VIRCELL TMB SUBSTRATE SOLUTION, VIRCELL STOP REAGENT und VIRCELL SERUM DILUENT sind mit entsprechenden, weiteren VIRCELL ELISA-Referenzen und -Artikeln kompatibel.

17. Nur die für den Test erforderliche Produktmenge einsetzen. Restliche Lösung nicht in die Ampulle zurückschütten.

18. Während der Inkubationszeiten verhindert eine korrekte Versiegelung der Küvetten mit dem mitgelieferten Klebeband eine Probenaustrocknung und garantiert die Wiederholbarkeit der Ergebnisse.

19. Für die Verwendung des Produktes in automatischen Analysesystemen wird eine vorherige Evaluierung empfohlen.

20. Alle im Zusammenhang mit dem Produkt auftretenden schwerwiegenden Vorfälle sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

#### Sicherheitsvorkehrungen.

Beachten Sie die folgenden Sicherheitshinweise: Für weitere Informationen steht ein Sicherheitsdatenblatt zur Verfügung.

Mitgelieferte Materialien	Gefährliche Inhaltsstoffe:	Gefahrenhinweise (CLP):
[2] VIRCELL SERUM DILUENT	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
[3] VIRCELL IgG POSITIVE CONTROL	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
[4] VIRCELL IgG CUT OFF CONTROL	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
[5] VIRCELL IgG NEGATIVE CONTROL	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
[6] VIRCELL IgG CONJUGATE	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
[7] VIRCELL TMB SUBSTRATE SOLUTION	2-Pyrrolidinon CAS-Nr: 616-45-5 EG-Nr: 210-483-1	H360 – Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.
[8] VIRCELL STOP REAGENT	Schwefelsäure CAS-Nr: 7664-93-9 EG-Nr: 231-639-5	H314 – Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
[9] VIRCELL WASH BUFFER (20x)	Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1) CAS-Nr: 55965-84-9	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
[10] VIRCELL IgG STANDARD I	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
[11] VIRCELL IgG STANDARD II	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
[12] VIRCELL IgG STANDARD III	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

Gefahrenhinweise (CLP): H314 – Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

Gefahrenpiktogramme (CLP):



GHS05 Ätzend

CLP Signalwort: Gefahr

Sicherheitshinweise (CLP):

P280 – Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.  
P305+P351+P338 – Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.  
P303+P361+P353 – Bei Berührung mit der Haut (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen oder duschen.  
P310 – Sofort Arzt, Giftinformationszentrum anrufen.  
P363 – Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.

Gefahrenhinweise (CLP):

H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

Gefahrenpiktogramme (CLP):



GHS07 Gesundheitsgefahr/  
Die Ozonschicht schädigend  
Achtung

CLP Signalwort:

Sicherheitshinweise (CLP):

P261 – Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.  
P272 – Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.  
P280 – Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.  
P302+P352 – Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser waschen.  
P321 – Sonderbehandlung (siehe ergänzende Erste-Hilfe-Anweisungen auf diesem Etikett).  
P333+P313 – Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.  
H360 – Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.

Gefahrenhinweise (CLP):

H360 – Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.

Gefahrenpiktogramme (CLP):



GHS08 Ernste Gesundheitsgefahr

CLP Signalwort: Gefahr

Sicherheitshinweise (CLP):

P202 – Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.  
P280 – Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.  
P308+P313 – Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.  
P501 – Inhalt/ Behälter in eine zugelassene Sonderabfallentsorgungseinrichtung gemäß den örtlichen und nationalen Bestimmungen zuführen.

#### BEDINGUNGEN FÜR DIE ENTNAHME, BEHANDLUNG UND AUFBEREITUNG DER PROBE

Blut sollte unter aseptischen Bedingungen durch Venenpunktion und von qualifiziertem Personal entnommen werden. Der Einsatz einer sterilen oder aseptischen Technik gewährleistet die Unversehrtheit der Probe. Serum- und Plasmaprobe sollten nach der Entnahme gekühlt aufbewahrt werden (bei 2-8°C); kann der Test nicht innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme durchgeführt werden, so sind die Proben tief zu frieren (-25- -15°C). Proben sollten nicht wiederholt gefroren und aufgetaut werden. Lipämische, hämolytische oder kontaminierte Seren nicht testen. Seren, die grobe Partikel enthalten oder trüb sind, sollten vor dem Einsatz zentrifugiert werden. Serum- und Plasmaprobe können gleichermaßen verwendet werden.

#### PRODUKTVORBEHANDLUNG

Nur die VIRCELL WASH BUFFER muss im Voraus zubereitet werden. Geben Sie 50 ml der VIRCELL WASH BUFFER (20x) zu 1 Liter Aqua dest. Sollten sich während der Lagerung des Waschpuffer-Konzentrates Salzkristalle gebildet haben, Lösung vor dem Verdünnen auf 37°C erwärmen, bis sich die Kristalle aufgelöst haben.

## TESTVERFAHREN

### QUALITATIV

1. Inkubator/Wasserbad auf 37±1°C erwärmen.
2. Vor Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen (ca. 1 Stunde), ohne die Platte aus der Verpackung zu entnehmen.
3. Alle Komponenten gut schütteln.
4. Platte [1] aus der Verpackung nehmen. Anzahl der benötigten Vertiefungen festlegen, dabei 4 Vertiefungen für die Kontrollen kalkulieren: zwei Vertiefungen für das Cut-off Kontrolle und jeweils eine für Negativ- und Positivkontrolle. Nicht benötigte Vertiefungen wieder in die Verpackung zurücklegen und gut verschließen.
5. Jeweils 100 µl Proben-Diluent [2] in alle Vertiefungen geben. 5 µl Serumprobe, 5 µl der positiven Kontrolle [3], 5 µl Cut-off Kontrolle [4] (Doppelbestimmung) und 5 µl der negativen Kontrolle [5] in die entsprechenden Vertiefungen geben.
6. Im Falle der manuellen Verwendung wird die Platte in einem Mischer geschüttelt (2 Minuten), um eine homogene Mischung der Reagenzien zu garantieren. Wenn es nicht möglich ist, die Platte zu mischen, muss eine Vorverdünnung der Probe in einem Reagenzglas oder einer Vertiefung durchgeführt werden, indem das doppelte Volumen an Reagenzien und Probe zugegeben wird. Mit der Pipette homogenisieren und sofort 105 µl von jeder schon verdünnten Probe in die Vertiefungen [1] umfüllen.
7. Platte mit Folie abdecken und 45 Minuten bei 37±1°C inkubieren.
8. Folie entfernen, Flüssigkeit aus allen Vertiefungen absaugen und 5 x mit jeweils 0,3 ml Waschlösung [9] pro Vertiefung waschen. Überschüssige Flüssigkeit abgießen.
9. Sofort 100 µl Peroxidase-Konjugat [6] in jede Vertiefung geben.
10. Platte mit Folie abdecken und 30 Minuten bei 37±1°C inkubieren.
11. Folie entfernen, Flüssigkeit aus allen Vertiefungen absaugen und 5 x mit jeweils 0,3 ml Waschlösung [9] pro Vertiefung waschen. Überschüssige Flüssigkeit abgießen.
12. Sofort 100 µl Substratlösung [7] in jede Vertiefung geben.
13. Bei Raumtemperatur 20 Minuten vor Licht geschützt inkubieren.
14. Farbentwicklung durch Zugabe von jeweils 50 µl Stopplösung [8] abstoppen.
15. Optische Dichte (O.D.) mit einem Spektrophotometer bei einer Wellenlänge von 450/620 nm innerhalb von 1 Stunde nach dem Abstoppen bestimmen.

### SEMIQUANTITATIV

1. Inkubator/Wasserbad auf 37±1°C erwärmen.
2. Vor Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen (ca. 1 Stunde), ohne die Platte aus der Verpackung zu entnehmen.
3. Alle Komponenten gut schütteln.
4. Platte [1] aus der Verpackung nehmen. Anzahl der benötigten Vertiefungen festlegen, dabei 6 Vertiefungen für die 3 doppelt auszuführenden semiquantitativen Kontrollen. Nicht benötigte Vertiefungen wieder in die Verpackung zurücklegen und gut verschließen.
5. Die Herstellung einer 1:20-Verdünnung der Serumproben erfolgt in separaten Röhrchen durch Zugabe von 5 µl Probe zu 95 µl Proben-Diluent [2] (1:20-Verdünnung).
6. Zugabe von 90 µl Proben-Diluent [2] in alle Vertiefungen - außer die für die semiquantitativen Kontrollen vorgesehenen - pipettieren. Zugabe von 10 µl der 1:20-Verdünnung der Serumproben (Endverdünnung 1/200). Zugabe von 100 µl von jeder semiquantitativen Kontrolle [10], [11], [12] (doppelt) in die entsprechenden Vertiefungen geben (die semiquantitativen Kontrollen sind schon gebrauchsfertig und müssen nicht vorverdünnt werden).
7. Platte mit Folie abdecken und 45 Minuten bei 37±1°C inkubieren.
8. Folie entfernen, Flüssigkeit aus allen Vertiefungen absaugen und 5 x mit jeweils 0,3 ml Waschlösung [9] pro Vertiefung waschen. Überschüssige Flüssigkeit abgießen.
9. Sofort 100 µl Peroxidase-Konjugat [6] in jede Vertiefung geben.
10. Platte mit Folie abdecken und 30 Minuten bei 37±1°C inkubieren.
11. Folie entfernen, Flüssigkeit aus allen Vertiefungen absaugen und 5 x mit jeweils 0,3 ml Waschlösung [9] pro Vertiefung waschen. Überschüssige Flüssigkeit abgießen.
12. Sofort 100 µl Substratlösung [7] in jede Vertiefung geben.
13. Bei Raumtemperatur 20 Minuten vor Licht geschützt inkubieren.
14. Farbentwicklung durch Zugabe von jeweils 50 µl Stopplösung [8] abstoppen.
15. Optische Dichte (O.D.) mit einem Spektrophotometer bei einer Wellenlänge von 450/620 nm innerhalb von 1 Stunde nach dem Abstoppen bestimmen.

## INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Jede Charge wird einer internen Qualitätskontrolle unterzogen, bevor einer Freigabe unter Spezifikationen zugestimmt wird, die strenger als die für den Anwender sind. Die endgültigen Ergebnisse der Qualitätskontrolle jedes einzelnen Artikels sind erhältlich.  
Dem Kontrollmaterial liegen als Referenz nachweislich intern geprüfte Serumplatten zugrunde.

## TEST-VALIDIERUNG FÜR ANWENDER

### QUALITATIV

Positiv-, Negativ- und Cutoff-Kontrollen müssen bei jedem Testlauf mitgeführt werden. Dadurch können Test und Kit validiert werden.  
Die Werte der optischen Dichte (OD) müssen in den Folgebereich fallen. Sonst ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

Kontrollserum	OD
Negativ- Kontrollserum	OD < 0,50
Cutoff- Kontrollserum	0,55 < OD < 1,50
Positiv- Kontrollserum	OD > 0,90

### SEMIQUANTITATIV

R<sup>2</sup> der Kalibrierungsgrafik muss >95 % sein, im gegenteiligen Fall ist der Assay ungültig und muss wiederholt werden.

## BERECHNUNGEN UND ERGEBNISAUSWERTUNG

### QUALITATIV

Bei Doppelbestimmung der Cutoff-Kontrolle den Mittelwert der OD berechnen.

Antikörper-Index=(Proben OD/gemittelte Cutoff-Kontrollen-OD) x 10

Index	Interpretation
<9	Negativ
9-11	Grenzwertig
>11	Positiv

Proben mit grenzwertigem Ergebnis müssen erneut getestet werden und/oder eine neue Probe sollte als Bestätigung herangezogen werden.

Bei Proben mit einem Index von unter 9 gilt: kein Bestehen von Antikörpern der von diesem Kit gemessenen Spezifität und Klasse.

Bei Proben mit einem Index von über 11 gilt: Bestehen von Antikörpern der von diesem Kit gemessenen Spezifität und Klasse.

### SEMIQUANTITATIV

Um die Konzentration an spezifischem Antikörper in der Probe abzuschätzen, ist es erforderlich, mittels eines geeigneten Programms oder mit Millimeterpapier eine Kalibrierungsgrafik zu erstellen. Auf der Y-Achse werden die Einheitenwerte der semiquantitativen Kontrollen und auf der X-Achse die Mittelwerte der entsprechenden OD-Werte aufgetragen. Daher müssen die semiquantitativen Kontrollen in jedem Assay doppelt durchgeführt werden. Die manuell oder mit einem entsprechenden Programm erstellte Kurve gestattet es, bei Kenntnis des OD-Wertes die entsprechenden Werte der Probe zuzuweisen.

Die entsprechenden Titer können aus den berechneten Einheitenwerten und der folgenden Tabelle bestimmt werden:

Einheitenwert	Titer
<10	Negativ
10-30	1/64
30-50	1/128
50-80	1/256
>80	≥1/512

## VERWENDUNGSBESCHRÄNKUNGEN

1. Das Kit ist für die Untersuchung von humanem Serum/Plasma.
2. Die Ergebnisse der Proben sollten immer in Verbindung mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Ergebnissen interpretiert werden. Eine endgültige Diagnose sollte durch direkte Diagnosetechniken gestellt werden.
3. Dieser Test zeigt nicht den Infektionsort. Er kann eine Erregerisolierung nicht ersetzen.
4. Zu Beginn der Infektion entnommene Proben weisen möglicherweise keine nachweisbaren Antikörperspiegel auf. In diesen Fällen wird empfohlen, eine zweite Probe zu entnehmen, die 14 bis 21 Tage später entnommen wird und parallel zur Originalprobe getestet werden soll, um eine Serokonversion zu bestimmen.
5. IgG-Befunde bei Neugeborenen müssen mit Vorsicht interpretiert werden, da das mütterliche IgG passiv auf den Fötus übertragen werden kann. IgM-Nachweise sind generell besser geeignet, um eine Infektion bei Kindern unter 6 Monaten aufzuzeigen.
6. Bei immunsupprimierten Patienten schließt ein negatives Ergebnis keine vorhandene Infektion aus.
7. Ein nicht nachweisbarer Antikörperspiegel schließt eine mögliche Infektion nicht aus.
8. Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt von einer geeigneten Probengewinnung, Transport, Lagerung und Verarbeitungsverfahren ab.
9. Die Durchführung dieses Tests wurde nicht bei Patienten ohne klinische Anzeichen und ohne Symptome einer Infektion untersucht.

10. Der Grad der Kreuzreaktion dieses Tests mit positiven Proben von *C. psittaci* wurde aufgrund seiner niedrigen Prävalenz und mangelnder Proben nicht bewertet.  
 11. Der semiquantitative Assay basiert auf der Äquivalenz mit dem Kit CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE IFA IgG von VIRCELL. Die Korrelation mit den entsprechenden Titern anderer auf dem Markt erhältlichen IFA-Kits ist nicht getestet worden.

12. Positive und negative prädiktive Werte hängen stark von der Prävalenz ab. Falschnegative Testergebnisse sind wahrscheinlicher, wenn die Krankheit weit verbreitet ist. Falschpositive Ergebnisse sind wahrscheinlicher bei niedriger Prävalenz.

13. Die angegebenen Testergebnisse entsprechen komparativen Studien mit kommerziellen prädikativen Produkten in einer definierten Bevölkerungsstichprobe. Es können kleine Unterschiede zwischen verschiedenen Bevölkerungen oder verschiedenen prädikativen Produkten bestehen.

**LEISTUNGSMERKMALE**  
**SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT**  
 QUALITATIV

**TEST 1**

Serum-/Plasmaproben wurden im Vergleich zu einem kommerziellen IFA-Kit getestet.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	178	
Sensitivität (%)	100	
	95% CI	88-97
Spezifität (%)	83	
	95% CI	91-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	83	
LR+/LR-	-1,22/-1,19	

CI: Konfidenzintervall  
 PPV: Positiver prädiktiver Wert  
 NPV: Negativer prädiktiver Wert  
 LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
 LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

**TEST 2**

Serum-/Plasmaproben wurden im Vergleich zu einem kommerziellen IFA-Kit getestet.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	16	
Sensitivität (%)	89	
	95% CI	76-99
Spezifität (%)	80	
	95% CI	91-100
PPV (%)	89	
NPV (%)	80	
LR+/LR-	-1,13/-1,10	

CI: Konfidenzintervall  
 PPV: Positiver prädiktiver Wert  
 NPV: Negativer prädiktiver Wert  
 LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
 LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

**KORRELATION**

**SEMIQUANTITATIV**

88 Serum-/Plasma-Proben wurden vergleichsweise mit CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE ELISA IgG gegenüber einem CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE IFA IgG Kit für IgG-Versuche getestet.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

	ELISA VIRCELL (Entsprechende Titer)						
	NEGATIV	64	128	256	512	Gesamt	
IFA VIRCELL (Titer)	<32	23	1			24	
	32	6	2	1		9	
	64	1	4	7	1	13	
	128		2	13	4	20	
	256			6	3	9	
	512			4	8	12	
	1024				1	1	
	Gesamt	30	9	21	15	13	88

**GENAUIGKEIT INNERHALB EINES DURCHLAUFS**

Es wurden 3 Proben jeweils 10 Mal unter gleichen Arbeitsbedingungen einzeln in einem einzigen von der gleichen Person durchgeführten Versuch pipettiert.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe	% CV
Positiven Kontrolle	2,4
Cut-off Kontrolle	4,3
Negativkontrolle	11,6

CV: Variationskoeffizient

**GENAUIGKEIT ZWISCHEN DEN DURCHLÄUFEN**

3 Proben wurden individuell an 5 aufeinanderfolgenden Tagen von 2 verschiedenen Personen getestet.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe	% CV
Positiven Kontrolle	3,1
Cut-off Kontrolle	5,2
Negativkontrolle	12,5

CV: Variationskoeffizient

**INTERFERENZEN**

**Interferenzen - Endogene Stoffe**

Mit jedem Störfaktor wurden 3 Proben getestet. Die Spezifikationen wurden in allen Fällen erfüllt. Bei hämolytischen (5,5 g/L Hämoglobin), ikterischen (1,5 g/L Bilirubin) oder hyperlipämischen (1 g/L Cholesterin und 1 g/L Tributyrin) Proben wurden keine Störungen festgestellt.

**KREUZREAKTIVITÄT**

22 Proben, die positiv auf andere Mikroorganismen (*Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis* und *Rickettsia conorii*) wurden getestet.

Mit *Legionella pneumophila* (4 Proben getestet), *Coxiella burnetii* (4 Proben getestet), *Mycoplasma pneumoniae* (4 Proben getestet), *Chlamydia trachomatis* (6 Proben getestet) und *Rickettsia conorii* (4 Proben getestet) wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt.

**BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLS**



Für die *In-vitro* Diagnostik



Verwendbar bis (Verfallsdatum)



Bei x-y°C lagern



Inhalt ausreichend für <n> Bestimmungen



Chargen-Nummer



Bestell-Nummer



Gebrauchsanleitung beachten



<X> Vertiefungen



Hersteller

**LITERATUR**

- Almirall, J. et al. 1993. Incidence of community acquired pneumonia and Chlamydia pneumoniae infection: a prospective multicentre study. Eur Respir J, 6(1), 14-8.
- Bas, S. et al. 2001. Chlamydial serology: comparative diagnostic value of immunoblotting, microimmunofluorescence test, and immunoassays using different recombinant proteins as antigens. J Clin Microbiol, 39(4), 1368-77.
- Black, C. M. et al. 1991. Antigenic variation among strains of Chlamydia pneumoniae. J Clin Microbiol, 29(7), 1312-6.
- Ekman, M. et al. 1993. Evaluation of serological methods in the diagnosis of Chlamydia pneumoniae pneumonia during an epidemic in Finland. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 12(10), 756-60.
- Everett, K. D. et al. 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(2), 415-40.

6. Freidank, H. M. et al. 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. Gutiérrez, J. et al. 2002. ELISA test to detect *Chlamydia pneumoniae* IgG. *J Basic Microbiol*, 42(1), 13-8.
8. Heiskanen-Kosma, T. et al. 1998. Etiology of childhood pneumonia: serologic results of a prospective, population-based study. *Pediatr Infect Dis J*, 17(11), 986-91.
9. Jauhainen, T. et al. 1994. Interference of immunoglobulin G (IgG) antibodies in IgA antibody determinations of *Chlamydia pneumoniae* by microimmunofluorescence test. *J Clin Microbiol*, 32(3), 839-40.
10. Kuo, C. C. et al. 1995. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev*, 8(4), 451-61.
11. Kauppinen, M. and Saikku, P. 1995. Pneumonia due to *Chlamydia pneumoniae*: prevalence, clinical features, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis*, 21 Suppl (3), S244-52.
12. Ladany, S. et al. 1989. Enzyme immunoassay to determine exposure to *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR). *J Clin Microbiol*, 27(12), 2778-83.
13. Numazaki, K. et al. 1996. Detection of serum antibodies against *Chlamydia pneumoniae* by ELISA. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 14(2-3), 179-83.
14. Steinhoff, D. et al. 1996. *Chlamydia pneumoniae* as a cause of community-acquired pneumonia in hospitalized patients in Berlin. *Clin Infect Dis*, 22(6), 958-64.
15. Thom, D. H. et al. 1994. Respiratory infection with *Chlamydia pneumoniae* in middle-aged and older adult outpatients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 13(10), 785-92.

**Versionsnummer: L-G1007-DE-02**

**Datum: 2021/12/17**

**Vorhergehende Version: L-G1007-DE-01**

**Aktualisierungen: Generelle Überarbeitung-Einhaltung von REACH/CLP**