


Chlamydia pneumoniae

IgM EIA



Instructions for use (English)
Notice d'utilisation (Français)
Instrucciones de uso (Español)
Gebrauchsanleitung (Deutsch)



 Labsystems Diagnostics Oy
Tiilitie 3, FIN-01720 Vantaa, Finland
Tel. +358-20-155 7523, Fax +358-20-155 7521
E-mail: sales@labsystemsdx.com
www.labsystemsdx.com

12.2.2018

2. Contaminación del conjugado por derrames de suero humano.	Todas las absorbancias son bajas. Tan solo unos nanolitros de suero son suficientes para bloquear la actividad del conjugado. Ponga especial atención para prevenir una posible contaminación.
3. Contaminación de los pocillos por derrames de suero humano.	Unos pocos valores individuales de absorbancia son (muy) bajos. Ponga especial atención para prevenir una posible contaminación.
4. Los reactivos están en mal estado * Debido a la contaminación o a un deterioro del HRP en el conjugado. * Debido a una conservación inadecuada.	Cuando extraiga las alícuotas de los frascos de los reactivos, utilice una técnica aséptica para evitar la contaminación, sino pueden producirse resultados erróneos. Proteja los reactivos del exceso de luz. Consérvese a +4°C.
5. Los reactivos no están calentados a temperatura ambiente antes del comienzo.	Debe estar a temperatura de +20...+25°C al comienzo del ensayo.
6. El tiempo de incubación es demasiado corto	Incubar 1h con una tolerancia de ±5min.
7. Intercambio de los reactivos.	No mezcle ni cambie los reactivos de lotes diferentes.
8. La solución de parada no ha sido mezclada correctamente.	Mezcle cuidadosamente antes de hacer la medida.

Causa/Error	Solución
PRECISIÓN INCORRECTA	
1. Las pipetas no están calibrados correctamente.	Compruebe la calibración de pipetas.
2. Lavado incorrecto debido a una contaminación de las puntas del lavador.	Limpie regularmente las puntas del lavador.
3. La placa ha estado secándose por mucho tiempo después del lavado.	Siga las instrucciones del kit cuidadosamente.
4. Calentamiento irregular de la placa.	Ponga en marcha la incubadora.

Gebrauchsanleitung

Nur zum *in vitro* Diagnostik Gebrauch

Chlamydia pneumoniae IgM EIA

Festphasenenzymimmunoassay zur Bestimmung von Antikörpern gegen Chlamydia pneumoniae im Humanserum oder Plasma

INHALT	Seite
ANWENDUNGSBEREICH.....	19
EINFÜHRUNG.....	19
TESTPRINZIP.....	20
KIT INHALT.....	20
REAGENZIVORBEREITUNG.....	21
ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL.....	21
VORSICHTSMAßNAHMEN.....	21
PROBENTNAHME UND -VERARBEITUNG.....	21
TESTDURCHFÜHRUNG.....	22
ERGEBNISSE.....	23
BEGRENZUNG DES TESTSYSTEMS.....	23
TESTCHARAKTERISTIKA.....	24
FEHLERSUCHE.....	24
LITERATUR.....	25
ANDERE PRODUKTE.....	26
GEBRAUCHTE SYMBOLEN.....	26

ANWENDUNGSBEREICH

Der Labsystems Diagnostics Chlamydia pneumoniae IgM EIA wurde entwickelt zum Nachweis von spezifischen IgM Antikörpern gegen *Chlamydia pneumoniae* im menschlichen Serum oder Plasma.

Ein positives Ergebnis ist aufschlußreich für die Diagnose einer akuten *Chlamydia pneumoniae* Infektion.

Es wird empfohlen, den Test parallel mit den Labsystems Diagnostics Chlamydia pneumoniae IgG und IgA Kits anzusetzen und zu interpretieren

EINFÜHRUNG

Seit der Beschreibung von *Chlamydia pneumoniae* als Pathogen (1) 1986, hat diese Spezies weltweite Bedeutung als Infektionsauslöser erlangt. *C. pneumoniae* ist in erster Linie ein Erreger des Respirationstraktes, der ungefähr 10-20% der erworbenen Pneumonien bei Erwachsenen und Kindern, sowie 10-20% der akuten Bronchitiden bei Erwachsenen verursacht (2, 3, 4). Zusätzlich verursacht er Sinusitis, akute Pharyngitis und kann Asthma auslösen (5). Die meisten Infektionen mit diesem Mikroorganismus verlaufen subklinisch und asymptomatisch, klinische Verlaufsformen sind selten (3). Chronische *C. pneumoniae* Infektionen werden als zusätzlicher Faktor bei der Entwicklung von Artherosklerose diskutiert (6,7) Seroepidemiologische Studien (8, 9, 10, 11) in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen ergaben, dass die

Seroprävalenz bei jungen Kindern und Jugendlichen stark zunimmt. Nach dem jugendlichen Alter steigt die Prävalenz weiterhin an, und kann fast eine komplette Sättigung der IgG und IgA - Antikörper im Alter aufweisen (11).

Bis heute basieren die meisten Untersuchungen auf serologischer Diagnostik. Frühe Studien wurden mit der Komplementfixation (CF) durchgeführt. Dieser Test ist Genus-spezifisch und zeigt eher positive Ergebnisse bei frühen Infektionen, als bei Reinfektionen (8). Der MIF-Test ist Spezies-spezifisch, beinhaltet aber eine subjektive Komponente und erfordert erfahrenes Personal bei der Auswertung. Außerdem eignet er sich nicht zur Automatisierung bei hohem Probenaufkommen. Die EIA Methode wurde entwickelt, um einerseits technische Probleme mit dem MIF Test zu umgehen, andererseits bietet er eine einfache, schnelle und objektive Durchführung.

TESTPRINZIP

Der Labsystems Diagnostics Chlamydia pneumoniae IgM EIA ist ein indirekter Festphasenzymimmunoassay mit Meerrettich-peroxidase als Marker Enzym. Der Testlauf entspricht folgenden Reaktionen:

Falls im Patientenserum IgM Antikörper gegen *Chlamydia pneumoniae* enthalten sind, binden diese an das Antigen, welches an die Oberfläche der Mikrotiterstreifen gebunden ist. Überschüssiges Patientenserum wird durch Waschen entfernt. Meerrettich-Peroxidase konjugierte anti-human IgM Antikörper (Schaf) werden hinzugefügt.

Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt und farbloses Enzymsubstrat (H₂O₂) und Chromogen (TMB, Tetramethylbenzidin, ein nicht mutagenes Chromogen für Meerrettich-Peroxidase) werden hinzugefügt. Die Enzymreaktion mit dem Chromogen resultiert in einem farbigen Endprodukt. Die Farbbildung wird durch Zugabe von Stopplösung (H₂SO₄) beendet. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Konzentration von *Chlamydia pneumoniae* Antikörpern in der Patientenprobe.

KIT-INHALT

Hinweis:

- Reagenzien sind bei +2°C und +8°C zu lagern.
- Das Verfallsdatum ist auf jeder Komponente des Kits und auf dem Außenetikett angegeben. Reagenzien nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr verwenden.
- Vermeiden Sie direkten Lichteinfluß. Dies ist eine reine Vorsichtsmaßnahme. Die lichtempfindlichen Reagenzien sind das Konjugat und die TMB-Substratlösung. Die letztere ist zum Schutz in undurchsichtige Kunststoffgefäße abgefüllt
- **Austauschbare Komponenten:**
- Folgende Reagenzien können beliebig aus Labsystems Diagnostics' Tests Chlamydia pneumoniae, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma pneumoniae und Bordetella pertussis IgG, IgA und IgM verschiedener Chargen-Nummern verwendet werden:

-Waschlösung

-Stopplösung

-TMB-Substratlösung


Diese Lösungen können auch separat bestellt werden (siehe Produktliste).


- Probenverdünnungslösung kann zwischen die Tests Chlamydia pneumoniae IgG, IgA und IgM verwendet werden, auch zwischen verschiedenen Chargen.
- IgG Absorptions-Reagenz kann zwischen verschiedenen Chargen der Tests Chlamydia pneumoniae IgM benutzt werden.


1 Mikrotiterplatte, 12 x 8 Vertiefungen ("CPM")
Beschichtete Mikrotiterplatte

2. Probenverdünnungslösung, 100 ml
Phosphatgepufferte Kochsalzlösung mit Zusätzen, einem blauen Farbstoff und 0,05% Bronidox® als Konservierungsmittel.

2a. IgG Absorptionsreagenz, 20 ml
Anti-human IgG Phosphatgepufferte Kochsalzlösung mit Zusätzen und 0,05% Bronidox® als Konservierungsmittel

3a. Negativ-Kontrolle, 1,0 ml 
Verdünntes Humanserum mit 0,05% Bronidox® als Konservierungsmittel und einem roten Farbstoff. Negativ für *Chlamydia pneumoniae* Antikörper.

3b. Cut-Off-Kontrolle, 1,0 ml 
Verdünntes Humanserum mit 0,05% Bronidox® als Konservierungsmittel und einem roten Farbstoff. Grenzwertig für *Chlamydia pneumoniae* IgM Antikörper.

3c. Positiv-Kontrolle, 1,0 ml 
Verdünntes Humanserum mit hohem Anteil an Antikörpern, mit 0,05% Bronidox® als Konservierungsmittel und einem roten Farbstoff. Potentiell infektiöses Material!

4. Konjugat, 30 ml
Gepufferte Salzlösung mit Zusätzen, einem roten Farbstoff und Meerrettich-peroxidase konjugierten anti-human IgM Antikörpern (Schaf) mit 0,1% N-Methylisothiazolon als Konservierungsmittel.

5. TMB-Substratlösung, gebrauchsfertig, 18 ml
Citratpuffer, enthält 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid mit Zusätzen und 0,01% Kathon CG als Konservierungsmittel.

6. Stopplösung, 25 ml
0,45 M H₂SO₄

7. Waschlösung, 100 ml
Konzentrierte citratgepufferte Kochsalzlösung mit Zusätzen und 0,05% Bronidox® als Konservierungsmittel.

Abdeckfolien für die Platten, 2 Stück
Einweg – Reagenzbehälter, 6 Stück

REAGENZIVORBEREITUNG

Reagenz	Vorbereitung	Stabilität von geöffneten oder verdünnten Reagenzien (+2 °C bis +8 °C)
1 Beschichtete Mikrotiterplatte	Gebrauchsfertig	6 Monate
2 Probenverdünnungslösung	Gebrauchsfertig	6 Monate*
2a IgG Absorptionsreagenz	Gebrauchsfertig	6 Monate*
3 Kontrollen	Gebrauchsfertig	6 Monate*
4 Konjugat	Gebrauchsfertig	6 Monate*
5 TMB-substratlösung	Gebrauchsfertig	6 Monate* Verwerfen Sie die restliche Lösung. Eine tiefblaue Farbe in der substratlösung zeigt eine Kontamination an. Die Lösung muss verworfen werden.
6 Stopplösung	Gebrauchsfertig	6 Monate*
7 Waschlösung-Konzentrat (10X)		6 Monate*
Waschlösung:	Verdünnen Sie das Konzentrat (Lsg. 7) 1+9 (1:10) mit destilliertem Wasser	1 Monat bei +4 °C oder 1 Woche bei Raumtemperatur

*) Nach dem Öffnen ist die Mikrotiterplatte-Folienverpackung dicht mit einem Entfeuchter verschlossen zu halten: Falten Sie die geöffnete Seite mehrmals und verschließen Sie diese luftdicht mittels Klebeband über die gesamte Breite. Die Stabilität der geöffneten Reagenzien bis zu Maximum kann nur bei Lagerung bei +2°C bis +8°C erreicht werden. Hohe Umgebungstemperaturen und Kontamination können die Stabilität herabsetzen.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser, vorzugsweise steril.
- Meßzylinder zur Verdünnung der Reagenzien.
- Gefäße zur Aufbewahrung der verdünnten Reagenzien
- Präzisionspipetten (1-Kanal-Pipetten z.B. 0,5-10 µl, 5-50 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl und 8-Kanal-Pipetten z.B. 50-300 µl)
- Papiertücher oder saugfähiges Papier.
- Laborwecker bis zu 60 Min.
- Mikrotitrationsplatteninkubator, nicht obligatorisch
- Mikrotitrationsplattenphotometer, 450 nm
- Waschautomat für Mikrotitrationsplatten
- Natriumhypochloritlösung (50-500mg/l frei verfügbares Chlor) zur Desinfektion
- Einmalhandschuhe.

VORSICHTSMAßNAHMEN

Nur zum *in vitro* Diagnostik Gebrauch.

Warnung: Potentiell infektiöses Material!

Jede Spendereinheit wurde auf Antikörper gegen HIV (Human Immunodeficiency Virus), HCV (Hepatitis C Virus) und Hepatitis B Marker (HBsAg) getestet. Die Ergebnisse waren negativ. Da kein Test und keine Inaktivierungsmethode komplette Sicherheit dafür bieten können, daß HIV, HBV, HCV oder andere infektiöse Bestandteile nicht vorhanden sind, sollten diese Reagenzien entsprechend Sicherheitsstufe 2 behandelt werden, gemäß der Empfehlung des Center for Disease Control / National Institutes for Health Manual "Bio Safety in Microbiological and Biomedical Laboratories" 2007 (14).

Vernichten Sie alle Materialien und Proben wie infektiöses Material. Die beste Methode zur Vernichtung ist Autoklavieren für mindestens eine Stunde bei 121°C. Flüssiger Abfall ohne Säure und neutralisierter Abfall kann mit Natriumhypochlorit gemischt werden, so daß die Lösung insgesamt 50 - 500 mg/l freies Chlor enthält, 30 Minuten einwirken lassen. Verschüttete Reagenzien sollten mit einer jodhaltigen Desinfektionslösung oder Natriumhypochlorit entfernt werden. Tücher, die zum Entfernen solcher Reagenzien benutzt werden, sollten wie infektiöses Material behandelt werden. Wiederverwendbare Glasgefäße müssen desinfiziert und frei von Überresten des Reinigungsmittels sein.

Flüssiger, säurehaltiger Abfall muß mit Lauge neutralisiert werden, bevor Natriumhypochlorit dazugegeben wird. Die Stopplösung (Gefäß 6) enthält 0,45 M Schwefelsäure. Vermeiden Sie kontakt mit Haut und Augen.

Tragen Sie Einmalhandschuhe beim Arbeiten mit den Proben und den Reagenzien. Waschen Sie sich anschließend sorgfältig die Hände. Pipettieren Sie **nie** mit dem Mund!

Verwenden oder vertauschen Sie keine Platten, Kontrollen, Kalibratoren oder Konjugate aus verschiedenen Chargen-Nummern dieses Produktes. Die Verschlüsse der Fläschchen dürfen nicht vertauscht werden.

Nach Beginn des Tests sollten alle Schritte nacheinander ohne Unterbrechung ausgeführt werden. Lassen Sie die Vertiefungen nach Beginn des Testes nie austrocknen

Benutzen Sie einen Teststreifen der Mikrotiterplatte nie zweimal, auch wenn einige Vertiefungen unbenutzt sind.

Präzises Pipettieren und striktes Einhalten der Inkubationszeiten und -temperaturen sind erforderlich

PROBENENTNAHME UND -VERARBEITUNG

Nach der Gewinnung sollten Serum- und Plasmaproben gekühlt bei +2°C - +8°C aufbewahrt werden. Wenn die Analyse nicht innerhalb von einer Woche durchgeführt werden kann, sollten die Proben bei -20°C oder besser bei -70°C eingefroren werden. **Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Proben sollte vermieden werden.**

Benutzen Sie kein Natrium-Azid als Konservierungsmittel, da es die Meerrettichperoxidase inaktiviert. Hitze-Inaktivierung von Serum oder Plasma (30 Min. bei +56°C) kann zu unspezifischen Ergebnissen führen.

Mikrobielle Kontamination, starke Hämolyse oder Hyperlipämie der Serum- und Plasmaproben können die Ergebnisse verfälschen.

Bei zu langer Lagerung von Serum- oder Plasmaproben (länger als ein Jahr tiefgefroren) bilden sich möglicherweise Lipidaggregate, die unspezifische Ergebnisse verursachen können.

Die Chlamydia pneumoniae IgG, IgA und IgM EIAs können aus Serum und Plasma (EDTA, Lithiumheparin und Natriumcitrat) durchgeführt werden. Gepaarte Proben sollten jedoch auf die gleiche Weise gewonnen werden.

Bemerkenswert ist, dass die Serum- und EDTA- und Heparinplasmaergebnisse vergleichbar sind, während die Ergebnisse für die Citratplasmaproben systematisch etwas niedriger liegen, was auf die Verdünnung des Plasmas mit Antikoagulanzen zurückzuführen ist.

TESTDURCHFÜHRUNG

VORBEREITUNG

- **Bringen Sie die Reagenzien und die Mikrotiterplatte auf Raumtemperatur (+20°C bis +25°C), bevor Sie mit der Testdurchführung beginnen.**
- Regulieren Sie den Inkubator auf +37°C.

PRE-SCHRITT: Proben im Verhältnis 1:101 in Probenverdünnungslösung verdünnen.¹⁻²

SCHRITT I

- Pipettieren Sie **zuerst 100 µl** IgG Absorptionsreagenz in jede Vertiefung²
- Reservieren Sie 2 Kavitäten für den Leerwert.
- Pipettieren Sie 10 µl der verdünnten Proben¹⁻²
- Anschließend 10 µl gebrauchsfertigen Kontrollen (Gefäße 3a, 3b und 3c) in Doppelbestimmung pipettieren
- Decken Sie die Platte ab und inkubieren Sie für **1 Stunde** (± 5 Min.) **bei +37°C** (±1°C).
- Waschen Sie **5 x 300–400 µl/** Vertiefung³

SCHRITT II

- Pipettieren Sie **100 µl** Konjugat (Gefäß 4) in jede Vertiefung².
- Decken Sie die Platte ab. Inkubieren Sie **1 Stunde** (± 5 Min.) **bei +37°C** (±1°C).

- Waschen Sie **5 x 300–400 µl/** Vertiefung³

SCHRITT III

- Geben Sie **100 µl** TMB-Substratlösung (Gefäß 5) in jede Vertiefung²
- Inkubieren Sie **30 Minuten bei Raumtemperatur** (+20°C bis +25°C), **im Dunkeln**.

SCHRITT IV

- Geben Sie **100 µl** Stopplösung (Gefäß 6) in jede Vertiefung².
- Messen Sie die Absorption sofort bei **450 nm** / Referenz 620 nm (590 – 690 nm).⁴

1. Proben im Verhältnis 1:101 (5 µl Probe und 500 µl Probenverdünnungslösung) verdünnen. Es wird empfohlen, Doppelbestimmungen besonders für den Kalibrator anzuwenden. **Gut vermischen.** Die vorverdünnten Patientenproben sind bei +4°C mindestens 2 Wochen stabil.

Die Kontrollen dürfen nicht verdünnt werden

2. **Kontamination vermeiden.** Bei Entnahme von Reagenzien aus den Gefäßen pipettieren Sie möglichst steril zur Vermeidung von Kontaminationen. Benutzen Sie für jede Probe eine neue Pipettenspitze. Um Kontaminationen des Konjugats zu vermeiden, füllen Sie die benötigte Menge Konjugat in einen Einweg-Reagenzbehälter. **Verwerfen Sie nach Gebrauch die restliche Konjugatlösung, füllen Sie sie nicht ins Gefäß zurück.** Hierfür enthält der Kit 6 Einweg-Reagenzbehälter. Die Behälter können auch für die TMB-Substratlösung und Probenverdünnungslösung verwendet werden. Achten Sie darauf, die Vertiefungen während des Pipettierens der TMB-Substratlösung nicht zu berühren.

3. Das Waschen kann manuell oder mit einem Waschautomaten erfolgen. Es wird empfohlen, für 15 – 30 Sekunden die Waschlösung in den Vertiefungen während jedes Waschvorgangs zu inkubieren. Nach dem Waschen entfernen Sie die Restflüssigkeit durch Aufklopfen der Mikrotiterplatte auf saugfähigem Papier

4 Der Leerwert sollte gemessen werden, um nachzuprüfen, ob dessen Absorption innerhalb der Grenzen der Kontrollwerte liegt

MEHRFACHTESTS

Antikörper (IgG, IgA, IgM) gegen *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* und *Bordetella pertussis* können aus derselben 1:101-Probenverdünnung bestimmt werden mit entsprechenden Labsystems Diagnostics EIA Tests. Für den Fall muss die Probenverdünnung **mit der Mycoplasma pneumoniae oder Bordetella pertussis Probenverdünnungslösung (1+100) hergestellt werden.** Einzelheiten entnehmen Sie den entsprechenden Gebrauchsanleitungen.

Bestimmung von *Mycoplasma pneumoniae* (Mp), *Chlamydia pneumoniae* (Cp) und *Bordetella pertussis* (Bp) IgG, IgA und IgM aus derselben 1:101-Probenverdünnung:

Vorverdünnung:
5 µl Probe + 500 µl **Mp oder Bp Probenverdünnungslösung** => Vorverdünnte Probe (1:101)

Bestimmung von *Chlamydia pneumoniae*

In die Vertiefungen:	IgG EIA	IgA EIA	IgM EIA
Vorverd. Probe (1:101)	10 µl	10 µl	10 µl
Cp Probenverdünnungslösung	100 µl	100 µl	-
Cp IgG Absorptions-Reagenz	-	-	100 µl
Endgültige Verdünnung	1:1111	1:1111	1:1111

Hinweise

Es wird empfohlen, für mehr Effizienz und Präzision eine 8-Kanal-Pipette zu verwenden

Bestimmung von Mycoplasma pneumoniae

In die Vertiefungen::	IgG EIA	IgA EIA	IgM EIA
Vorverd. Probe (1:101)	50 µl	50 µl	50 µl
Mp Probenverdünnungs lösung	50 µl	50 µl	-
Mp IgG Absorptions-Reagenz	-	-	50 µl
Endgültige Verdünnung	1:202	1:202	1:202

Bestimmung von Bordetella pertussis

In die Vertiefungen::	IgG EIA	IgA EIA	IgM EIA
Vorverd. Probe (1:101)	100 µl	50 µl	50 µl
Bp Probenverdünnungs lösung	-	50 µl	-
Bp IgG Absorptions-Reagenz	-	-	50 µl
Endgültige Verdünnung	1:101	1:202	1:202

ERGEBNISSE

Berechnung der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden in der Einheit Signal-Cut-off (S/CO) angegeben.

Verwenden Sie folgende Formel für die Berechnung:

$$S/CO \text{ Probe} = \frac{(A \text{ Probe} - A \text{ Blank})}{(A \text{ Cut-off} - A \text{ Blank})}$$

- wobei A_{Probe} = Absorption der Probe
 A_{Blank} = Absorption des Blanks (Leerwerts)
 $A_{\text{Cut-off}}$ = Absorption der Cut-off-Kontrolle

Beispiel 1:
Angabe der Ergebnisse in EIU

	Mittelwert der Absorption bei 450 nm	S/CO
Leerwert	0,050	
Negativ-Kontrolle	0,078	0,09
Cut-Off-Kontrolle	0,350	1 per Def.
Positiv-Kontrolle	1,255	4,01
Serokonversion: Probe 1	0,185	0,45
Serokonversion: Probe 2	0,815	2,55

Qualitätskontrolle

Die Ergebnisse eines Testlaufs sind akzeptabel, wenn:

	Absorption
Leerwert	≤ 0.100
Negativ-Kontrolle	≤ 0.150 *)
Cut-Off-Kontrolle	≥ 0.200 *)
	S/CO
Positive Control	2.5 – 6.1

*) nach Abzug der Leerwertabsorption

Interpretation der Ergebnisse

- S/CO < 0,5 Negativ
 0.5 ≤ S/CO ≤ 1.1 Zweifelhafte
 S/CO > 1,1 Positiv

Zweifelhafte Ergebnisse:

Proben, die zweifelhafte Ergebnisse liefern, sollten erneut getestet werden. Fällt das Ergebnis wieder in den zweifelhaften Bereich, sollte eine zweite Serumprobe angefordert werden. Die Festlegung der Grauzone in den OD Bereich zwischen 0,5 und 1,1 basiert auf der Untersuchung von finnischen Blutspendenserum – und Plasma – Proben.

Akute Infektion:

Bei akuten primären Infektionen kann die IgM-Antwort bereits in der ersten Serumprobe nachweisbar sein. Bei Reinfektionen kann eine IgM-Antwort ausbleiben. Die Labsystems Diagnostics' Chlamydia pneumoniae IgA und IgG EIAs liefern zusätzliche Informationen für die Diagnose einer akuten Chlamydia pneumoniae Infektion

Nicht - akute Infektion:

Stabile oder abfallende IgG und /oder IgA-Antikörper Level mit nicht nachweisbarem oder grenzwertigem IgM, sind ein Hinweis auf: zurückliegende Infektion, abklingende Infektion, Zustand nach Therapie oder persistierende Infektion.

BEGRENZUNG DES TESTSYSTEMS

Da eine einzelne Methode nie zu einer definierten Diagnose führen kann, sollten die mit diesem Test erhaltenen Ergebnisse immer im Zusammenhang mit dem klinischen Bild, der epidemiologischen Situation und anderen Labormethoden interpretiert werden.

Wurde eine Serumprobe zu Beginn der akuten Phase der Infektion entnommen, sind möglicherweise noch keine IgM-Antikörper nachweisbar. Bei Reinfektionen kann eine IgM-Antwort ausbleiben (8, 12). Andererseits können in einigen seltenen Fällen "tail" IgM-Antikörper bei asymptomatischen Patienten nachweisbar sein und bis zu 3 Jahre persistieren (9).

Aufgrund der begrenzten Anzahl gesicherter Chlamydia psittaci Fälle, konnte die Gesamt-Spezifität nicht bestimmt werden. Da die Behandlung in beiden Fällen (C. pneumoniae und C. psittaci) weitestgehend gleich ist, mindert diese Einschränkung nicht die Bedeutung der Ergebnisse.

Der Test sollte von ausgebildeten Labortechnikern durchgeführt werden.

TESTCHARAKTERISTIKA

Spezifität

Gepaarte Seren (N=20) von Kindern und Erwachsenen mit kulturell nachgewiesener *Bordetella pertussis* Infektion wurden mit dem C. pneumoniae EIA untersucht. Alle Fälle wurden als *Chlamydia pneumoniae* negativ beurteilt.

Ebenso wurden Seren mit IgM Antikörpern gegen EBV, Rubella, Toxoplasma gondii, CMV sowie Seren mit verschiedenen Autoantikörpern mit dem C. pneumoniae IgM EIA untersucht. Keines der Seren zeigte Kreuzreaktionen im EIA.

Reproduzierbarkeit

Intra-Assay Reproduzierbarkeit

Proben	Verdünnungen	S/CO	CV%
Probe 1	10	4.2	14.8
Probe 2	10	1.9	12.5
Probe 3	10	1.1	11.0

Inter-Assay Reproduzierbarkeit

Proben	Verdünnungen	Operatoren	Testläufe	S/CO	CV%
Probe 1	4	5	10	3.8	9.6
Probe 2	4	5	10	2.2	5.1
Probe 3	4	5	10	1.2	9.0
Probe 4	4	5	10	1.0	8.7

Zusammenfassung der Studien

Gepaarte Serumproben, die während des Ausbruchs einer C. pneumoniae Epidemie in Schweden 1995 gesammelt wurden, wurden auf Serokonversion untersucht. Die Serokonversionsrate, die mit den Tests von LabSystems Diagnostics ermittelt wurde, wurde mit der entsprechenden Serokonversionsrate, die mit zwei Vergleichs-EIA Tests, und einem hausinternen MIF ermittelt wurde, verglichen. Serokonversion von IgG und IgA und/oder positives IgM in den LabSystems Diagnostics Tests wurde als Hinweis auf eine akute C. pneumoniae Infektion interpretiert.

Die in die Studie einbezogenen Proben entstammten folgenden ursprünglich eingeteilten Gruppen:

- Positive Serumpaare, d. h. akute primäre oder Re-Infektion (n = 106)
- Negative Serumpaare, d. h. keine Infektion oder zurückliegende Infektion (n = 134)

Vergleich von vier serologischen Methoden zum Nachweis einer akuten C. pneumoniae Infektion (13)

	MIF (%) hausintern	EIA 1 (%) Vergleichs- EIA	EIA 2 (%) Vergleichs- EIA	EIA (%) LabSystems Diagnostics
Sensitivität	93/106 (88)	92/106 (87)	97/106 (92)	102/106 (96)
Spezifität	133/134 (99)	132/134 (99)	127/134 (95)	133/134 (99)
PV pos.	93/94 (99)	92/94 (98)	97/104 (93)	102/103 (99)
PV neg.	133/146 (91)	132/146 (90)	127/146 (93)	133/137 (97)

Die Ergebnisse der Studie zeigen, daß von 106 Fällen, die von mindestens 2 Methoden als akute Infektionen interpretiert wurden, der Vergleichs-EIA 1 14 Fälle, der Vergleichs-EIA 2 9 Fälle fehlinterpretierte, der LabSystems Diagnostics EIA dagegen nur 4 Fälle.

Schlußfolgerung

Wegen der reproduzierbaren und objektiveren Ergebnisse kann der EIA gut zwischen zurückliegender Infektion und Reinfektion differenzieren. Demzufolge wird den Patienten mit Reinfektionen während einer Epidemie schneller eine spezifische Behandlung zuteil werden.

FEHLERSUCHE

Leerwert ist zu hoch

Ursache / Fehler	Lösung
1. Kontamination durch Spritzer von anderen Vertiefungen.	Vermeiden Sie Kontaminationen.
2. Das Waschlösungskonzentrat wurde nicht korrekt verdünnt.	Verdünnen Sie die Waschlösung im Verhältnis 1:10 (1+9)
3. Nicht ausreichendes Waschen.	Überprüfen Sie Ihren Washer.
4. Kontamination des Reaktionsgefäßes für das TMB-substrat	Heben Sie die restliche TMB-substratlösung bis zum Testende auf. Prüfen Sie, ob sich die Lösung im Gefäß blau färbt. Dies ist ein Hinweis auf eine Kontamination.

Ursache/Fehler	Lösung
ALLE EXTINKTIONSWERTE SIND EXTREM NIEDRIG	
1. Inkubationstemperatur ist zu niedrig	Inkubieren Sie bei 37°C ±1°C. Verschiedene Geräte heizen unterschiedlich gut. Inkubatoren, die effizient und gleichmäßig wärmen, sind vorzuziehen.
2. Kontamination von Konjugat mit Spritzern von Humanserum	Alle Absorptionswerte sind niedrig. Bereits geringe Serummengen im Nanoliterbereich genügen, um die Aktivität des Konjugats zu blockieren. Achten Sie besonders darauf, Kontaminationen zu vermeiden.
3. Kontamination von Vertiefungen mit Spritzern von Humanserum	Vereinzelte Absorptionswerte sind (sehr) niedrig. Achten Sie besonders darauf, Kontaminationen zu vermeiden.
4. Reagenzien sind abgebaut	Aliquot nur unter sterilen Bedingungen aus den Reagenzgefäßen entnehmen, um Kontaminationen zu vermeiden, ansonsten können fehlerhaft Resultate auftreten. Reagenzien von Lichteinfall schützen. Lagern Sie die Reagenzien bei + 4 °C.
* durch Kontamination oder HRP Abbau des Konjugats	
* durch unsachgemäße Lagerung	

5. Reagenzien wurden vor dem Testansatz nicht auf Raumtemperatur erwärmt.	Die Reagenzien sollten vor dem Teastansatz auf +20°C bis +25°C erwärmt werden.
6. Inkubationszeit ist zu kurz	1 Stunde ± 5 Min oder 30 Min inkubieren.
7. Austausch von Reagenzien aus verschiedenen Chargen	Verwenden Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen in einem Testansatz.
8. Nach Zugabe der Stopplösung wurde nicht ausreichend gemischt	Mischen Sie sorgfältig nach Zugabe der Stopplösung.

Geringe Präzision

Ursache / Fehler	Lösung
1. Die Pipetten sind schlecht kalibriert.	Überprüfen Sie die Kalibrierung der Pipetten.
2. Uneffizientes Waschen durch Kontamination des Waschtopfes.	Reinigen Sie die Zähne des Waschkamms regelmäßig.
3. Die Platte trocknet aus durch nicht zügiges Weiterarbeiten nach dem Waschen.	Befolgen Sie strikt die Testanweisung in der Gebrauchsanleitung.
4. Die Mikrotitrationsplatte wird unregelmäßig erwärmt.	Wartung des verwendeten Inkubators oder Brutschanks.

10. Karvonen M, Tuomilehto J, Pitkänen J, Naukkarinen A and Saikku P. *Chlamydia pneumoniae* IgG antibody prevalence in south-Western and Eastern Finland in 1982 and 1987. Int J Epid 1994; 23:176-184.
11. Tuuminen T, Varjo S, Ingman H, Weber T, Oksi J and Viljanen M. Prevalence of *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* in a healthy Finnish population as analyzed by quantitative enzyme immunoassays (EIAs). Clin Diagn Lab. Immunol. 2000; 7:734-738.
12. Pizzichini MMM, Pizzichini E, Efthimiadis A, Clelland L, Mahony JB et al.: Markers of inflammation in induced sputum in acute bronchitis caused by *Chlamydia pneumoniae*. Thorax 1997; 57: 929-931
13. Persson K, Boman J. Comparison of five serologic tests for diagnosis of acute infections by *Chlamydia pneumoniae*. Clin Diagn Lab. Immunol. 2000; 7:739-744.
14. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. 5th Edition 2007. US Government Printing Office. Washington 2007

REFERENCES / REFERENCES / REFERENCIAS / LITERATUR:

1. Grayston JT, Kuo CC, Wang SP, Altman J. A new *Chlamydia psittaci* strain, TWAR, isolated in respiratory tract infections. N Engl J Med 1986; 315:161-168.
2. Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR. Chest 1989; 95:664-669.
3. Kleemola M, Saikku P, Vasakorpi R, Wang SP and Grayston JT. Epidemics of pneumonia caused by TWAR. J Infect Dis 1988;157:230-236.
4. Grayston JT, Aldous MB, Easton A, Wang SP, Kuo CC, Campbell LA et al. Evidence that *Chlamydia pneumoniae* causes pneumonia and bronchitis. J Infect Dis 1993; 168:1231-1235.
5. Hahn DL, Dodge RW and Golubjatnikov R. Association of *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis and adult-onset asthma. JAMA 1991;266:225-230.
6. Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Mäkelä PH et al. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. Lancet 1988;2:983-986.
7. Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmäki E, Ekman MR, Manninen V et al. Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. Ann Int Med 1992;116:272-278.
8. Grayston JT, Campbell LA, Kuo CC, Mordhorst CH, Saikku P, Thom DH and Wang SP. A new respiratory tract pathogen: *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. J Infect Dis 1990;161:618-625.
9. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, and Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). Clin Microbiol Rev 1995; 8:451-461.

RELATED PRODUCTS / PRODUITS AFFILIÉS / PRODUCTOS RELACIONADOS/ANDERE PRODUKTE

Product number	Description	Size
6111 300	Chlamydia pneumoniae IgG EIA	96 wells
6111 310	Chlamydia pneumoniae IgA EIA	96 wells
6111 320	Chlamydia pneumoniae IgM EIA	96 wells
6111 400	Mycoplasma pneumoniae IgG EIA	96 wells
6111 410	Mycoplasma pneumoniae IgA EIA	96 wells
6111 420	Mycoplasma pneumoniae IgM EIA	96 wells
6111 500	Bordetella pertussis IgG EIA	96 wells
6111 510	Bordetella pertussis IgA EIA	96 wells
6111 520	Bordetella pertussis IgM EIA	96 wells
6111 045	Washing solution	100 ml
6111 055	TMB-substrate solution	18 ml
6111 060	Stopping solution, 0,45 M H2SO4	25 ml
6108 380	C. pneumoniae IgG/IgM MIFA	20x21 w.
6108 382	C. pneumoniae IgG/IgM MIFA	20x12 w.
6108 390	C. pneumoniae IgA MIFA	20x21 w.
6108 392	C. pneumoniae IgA MIFA	20x12 w.
6108 384	C. pneumoniae MIFA slides	5x21 wells

SYMBOLS USED / SYMBOLES UTILISÉS / SIMBOLOS UTILIZADOS / GEBRAUCHTE SYMBOLEN / SIMBOLI USATI

Products / Produits / Productos / Produkte / Prodotto	
6111 300	Chlamydia pneumoniae IgG EIA
6111 310	Chlamydia pneumoniae IgA EIA
6111 320	Chlamydia pneumoniae IgM EIA
6111 400	Mycoplasma pneumoniae IgG EIA
6111 410	Mycoplasma pneumoniae IgA EIA
6111 420	Mycoplasma pneumoniae IgM EIA
6111 500	Bordetella pertussis IgG EIA
6111 510	Bordetella pertussis IgA EIA
6111 520	Bordetella pertussis IgM EIA
6111 101	Chlamydia Trachomatis IgG EIA
6111 111	Chlamydia Trachomatis IgA EIA
6111 045	Washing solution
6111 055	TMB-substrate solution
6111 060	Stopping solution, 0,45 M H2SO4



CE-mark
CE-mark
Markado CE
CE-Kennzeicheh
Marchio CE



CE-mark, code of the Notified Body
CE-mark, code des autorités compétentes
Markado CE, no. del organismo notificado
CE-Kennzeicheh, Kennnummer der benannten Stelle
Marchio CE, codice delle autorità competenti



Catalog number
Ref. no
No. de catálogo
Bestellnr.
Cat.n.



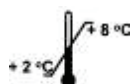
Contains sufficient for < n > tests
Pour n dosages
Para n determinaciones
Für n Bestimmungen
Per n determinazioni



Use by YYYY-MM
A utiliser avant YYYY-MM
Utilizado por YYYY-MM
Verwendbar bis YYYY-MM
Utilizzarre entro



Batch code
Lot no.
No de lote
Chargenbezeichnung
Lotto N.



Temperature limitation
Limites de température
Limite de température
Temperaturgrenzen
Limiti di temperatura



In vitro diagnostic medical device
Diagnostic in vitro

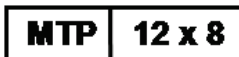
Diagnóstico in vitro
In-vitro-Diagnostikum
Diagnostico in vitro



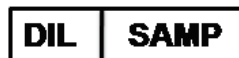
Manufacturer
Fabricant
Fabricante
Hersteller
Fabbricante



Consult instructions for use
Lire la notice d'utilisation
Consultar manual de instrucciones
Gebrauchsanweisung beachten
Consultare il manuale di istruzioni



Coated microplate
Microplaque marqué
Microplaca sensibilizada
Beschichtete Microtiterplatte
Micropiastra sensibilizzata



Sample diluent
Diluant pour échantillon
Diluyente de la muestra
Probenverdünnungslösung
Diluyente per i campioni



IgG removing reagent
Réactif éliminant les IgG
Absorbente-IgG
IgG Absorptionsreagenz
Reattivo de bloqueo dello IgG



Calibrator
Etalon
Calibrador
Kalibrator
Calibratore



Cut-Off control
Contrôle de Cut-Off
Control de corte
Cut-Off Kontrolle
Controllo Cut-Off

CONTROL BORD

Borderline control
Contrôle Intermédiaire
Control intermedio
Grenzwert Kontrolle
Controllo Mezzo

CONTROL +

Positive control
Contrôle Positif
Control positivo
Positiv Kontrolle
Controllo positivo

CONTROL -

Negative control
Contrôle négatif
Control negativo
Negativ Kontrolle
Controllo negativo

CONJ IgG

Conjugate IgG
Conjugué IgG
Conjugado IgG
Konjugat IgG
Conjugato IgG

CONJ IgA

Conjugate IgA
Conjugué IgA
Conjugado IgA
Konjugat IgA
Conjugato IgA

CONJ IgM

Conjugate IgM
Conjugué IgM
Conjugado IgM
Konjugat IgM
Conjugato IgM

SUBS TMB

TMB-Substrate (ready to use)
TMB-Substrat (prêt à l'emploi)
TMB-Substratlösung (gebrauchsfertig)
Sustrato-TMB (préstamo para utilizar)
TMB-substrato (prestato per usare)

SOLN STOP

Stopping solution (0.45 M H2SO4)
Solution Stop. (0.45 M H2SO4)
Stopplösung (0.45 M H2SO4)
Solución de parada (0.45 M H2SO4)
Soluzione Stop (0.45 M H2SO4)

BUF WASH 10X

Washing solution (concentrate)
Solution de lavage (concentré)
Waschlösung (Konzentrat)
Solución de lavado (concentrado)
Soluzione di lavaggio (concentrato)

REAG BASS

Reagent basins
Bassins pour réactifs
Recipientes para los reagents
Einweg-Reagenzbehälter
Vaschette monouso per reagenti

PLAS COV

Incubation covers
Couvercles d'incubation
Cubiertas de incubación
Inkubationsabdeckungen
Pellicola adesiva per incubazione



Potential biohazardous material.
Matériel à risque infectieux potentiel.
Riesgo biológico potencial
Potentiell infektiöses Material
Materiale biologico potenzialmente pericoloso