



BIOCLONE

ELEGANCE

Chlamydia pneumoniae

IgG ELISA KIT

REF 40 CPG0096

Σ 96

DEUTSCH



0843

GARANTIE

Der Hersteller gewährt keine andere Garantie außer der, dass der Diagnostikkit den betreffenden Analyten misst, wenn es gemäß der gedruckten Gebrauchsanweisung des Herstellers verwendet wird. Die Verwendung des Diagnostikkits für jeden anderen Zweck ist nicht Teil des Verwendungszwecks dieses Produkts und erfolgt auf Risiko des Benutzers. Der Hersteller lehnt alle vorausgesetzten Garantien hinsichtlich einer allgemeinen Gebrauchstauglichkeit, Verwendungstauglichkeit oder vorausgesetzten Verwendbarkeit für jeden anderen Zweck ab. Alle durch einen bei anweisungsgerechter Verwendung auftretenden Fehler des Diagnostikkits sind auf den Ersatzwert des Kits beschränkt. Die Garantie der Bioclone Australia Pty Limited und ihrer Vertriebshändler beschränkt sich ausschließlich auf den Umtausch des Produkts oder die Rückerstattung des Kaufpreises. Bioclone Australia Pty Limited haftet nicht für durch das Produkt verursachte Eigentumsbeschädigung, Körperverletzung oder wirtschaftlichen Verlust.

Hergestellt durch Bioclone Australia Pty Limited
(ein Tochterunternehmen der Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071
71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIA 2204
Tel +61 (0) 2 9517 1966 Fax +61 (0) 2 9517 2990 Befreien Sie Ruf 1800 251 138
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

EC REP Hitachi Chemical Diagnostics Inc.
Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

VERWENDUNGSZWECK

Der ELEGANCE Chlamydia pneumoniae IgG ELISA dient der *in-vitro*-Diagnostikmessung von anti-Chlamydia pneumoniae IgG beim Screening von Humanserum.

ELEGANCE ELISA TESTPRINZIP

Der Chlamydia pneumoniae ELISA ist ein Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay zur Bestimmung von anti-Chlamydia pneumoniae in Humanserum. Gereinigtes, an die Mikrotiterstreifen gebundenes Chlamydia pneumoniae Antigen bildet einen Komplex mit den anti-Chlamydia pneumoniae der Probe. Nach dem Waschen bildet jeder gebundene Antikörper mit anti-humanen Chlamydia pneumoniae polyklonalen Antikörpern Komplexe, die mit alkaliner Phosphatase markiert werden. Eine Substratlösung, die p-NPP enthält, reagiert mit alkaliner Phosphatase und produziert je nach der Präsenz von anti-Chlamydia pneumoniae in der Probe eine Färbung. Das Ergebnis wird durch Errechnung eines Probenindexwertes aus den optischen Dichtewerten (OD) des zu kontrollierenden Materials bestimmt.

ELEGANCE MITGELIEFERTE REAGENZIEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgröße - 96 Tests. Der Kit und alle Komponenten sind bei 2-8°C geöffnet oder

ungeöffnet innerhalb des angegebenen Verfalldatums zu lagern.

Chlamydia pneumoniae:

Beschichtete Mikrotiterstreifen 96 Vertiefungen

REF # CPA96

Rack, der Mikrotiterstreifen enthält, die mit hoch gereinigten Chlamydia pneumoniae - speziellen Außenmembrankomplexen - beschichtet sind. Gebrauchsfertig.

Chlamydia pneumoniae IgG: Antikörper Reagenz

1 Fläschchen REF # CPGB96
10,5 ml alkaline Phosphatase, markierte Antihuman IgG polyklonale Antikörper in einer gepufferten Lösung, die Rinderserumalbumin enthält. Enthält Natriumazid (NaN₃), 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

Chlamydia: Negative Kontrolle

1 Fläschchen REF # CN1
1,4 ml gepufferte Serumverdünnungslösung. Enthält NaN₃, 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

Chlamydia pneumoniae IgG: Positive Kontrolle

1 Fläschchen REF # CPGP1
1,4 ml anti-Chlamydia pneumoniae IgG in gepufferter Serumverdünnungslösung. Enthält NaN₃, 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

Chlamydia: Stopplösung

1 Fläschchen REF # CSOH96
5 ml Natriumhydroxydlösung, 12% w/v. Gebrauchsfertig.

Chlamydia: Waschkonzentrat

1 Fläschchen REF # CW96
50 ml einer 10fach

konzentrierten Waschlösung. Enthält NaN₃, 1% w/v. Vor Gebrauch zu verdünnen.
Chlamydia: Substratlösung
1 Fläschchen REF # CSL96
10,5 ml p-Nitrophenolphosphat (p-NPP) chromogene Substratlösung. Gebrauchsfertig.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

Behandlung der Proben und Komponenten des Kits, deren Verwendung, Lagerung und Anordnung sollte gemäß der lokalen oder nationalen Laborsicherheitsvorschriften oder Richtlinien erfolgen. Nur für Fachpersonal.

Proben und Kontrollen

Die Ausgangsstoffe der Kontrollen wurden mit einer anerkannten, zugelassenen Methode für das Vorliegen von Hepatitis B

Oberflächenantigen, Hepatitis C Antikörper und HIV Antikörper - 1/2 (AIDS) getestet und wurden insgesamt als nicht reaktiv befunden.

Trotzdem empfiehlt es sich, alle Proben als potentiell infektiös zu behandeln.

Beschichtete

Mikrotiterstreifen

Die Vorbereitung des endgültigen Antigens für die Mikrotiterstreifen hat dem Material die infektiöse Wirkung genommen. Trotzdem empfiehlt es sich wie bei allen biologischen Materialien dieser Art die Mikrotiterstreifen so zu behandeln, als wären sie in der Lage, Infektionskrankheiten zu übertragen.

Konservierungsstoffe

Der Kit enthält Natriumazid als Konservierungstoff. Da Reagenzien potentiell toxische Konservierungsstoffe enthalten, sollte vorsichtig damit umgegangen werden, um Verschlucken oder Hautkontakt zu vermeiden. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferrohrleitungen reagieren und potentiell explosive Säuren bilden.

Stopplösung und Substrat

Jeglichen Hautkontakt vermeiden.

PROBENENTNAHME UND UMGANG

Es ist keine spezielle Patientenvorbereitung erforderlich. Serumproben sollten labortestgerecht entnommen werden. Keine hämolytischen, lipämischen und trüben Proben verwenden.

Proben können bei 2-8°C bis zu 48 Stunden gelagert werden. Länger zu lagernde Proben sollten bei -20°C oder darunter aufbewahrt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren oder aufgetaut werden. Aufgetaute Proben sollten auf Ausflockungen geprüft werden und durch kurzes Umdrehen über Kopf vor Gebrauch gemischt werden. Trübe Proben oder Proben, die Partikel enthalten, sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden.

ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND

AUSRÜSTUNG

- * Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- * Präzisionspipetten
- * Multipipette
- * Messzylinder
- * Saugfähiges Papier (fusselfrei)
- * Inkubator (37°C)
- * Timer
- * Mikrotiter Plattenschüttler
- * Mikrotiter Plattenwascher
- * Mikroplattenlesersystem 405 nm
- * Vortexmischer
- * Verdünnungsröhrchen

HINWEISE ZUM VERFAHREN

Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-25°C) und vor der Gebrauch vorsichtig mischen (über Kopf umdrehen). Doppelbestimmung ist empfehlenswert. Kontamination der Reagenzien führt zu schlechten Ergebnissen.

Kontrollen sollten für jeden Test vorgenommen werden. Alle Testschritte sind ohne Unterbrechung durchzuführen. Die Reagenzien sind aufeinander abgestimmt, daher sollte man Reagenzien verschiedener Chargennummern nicht untereinander mischen. Das Fotometer, der Inkubator und alle verwendeten Pipetten sind vor dem Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

Waschen

Die Effizienz jedes Waschschriffs ist von entscheidender Bedeutung für eine hohe Präzision. Die Mikrotiterstreifen werden unter Verwendung eines automatischen Plattenwaschers gewaschen. Überschwappen von einer Vertiefung zur anderen ist zu vermeiden.

TESTVERFAHREN

Vorbereitung der Reagenzien

Waschlösung

Waschkonzentrat 1 zu 10 mit entionisiertem Wasser verdünnen. Wenn das Chlamydia Waschkonzentrat kristallisiert ist, auf 37°C erwärmen. Die Waschlösung wird auch als

Probenverdünnung verwendet. Die Waschlösung kann bei Raumtemperatur (20-25°C) 1 Monat gelagert werden.

Probenvorbereitung
Unmittelbar vor der Verwendung die Probe auf Raumtemperatur (20-25°C) bringen und gut vortexen. Unter Verwendung eines Verdünnungsröhrchens:
a. 10 µl Probe pipettieren und 200 µl Waschlösung zufügen. Vorsichtig vortexen, dann
b. 20 µl verdünnte Probe in ein neues Röhrchen pipettieren und 180 µl Waschlösung zufügen. Erneut vorsichtig vortexen. Dies ist ein endgültiger Verdünnungsfaktor von 1 zu 210 und diese finale Probenverdünnung wird im Test verwendet. Kontrollproben nicht verdünnen.

Protokoll

- Die Mikrotiterstreifen entsprechend der Anzahl der erforderlichen Tests im Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder einpacken und bei 2-8°C lagern.
- In die entsprechenden Vertiefungen 100 µl folgender Materialien pipettieren:
 - Waschlösung (1 Vertiefung - 'blank')
 - Chlamydia* Negative Kontrolle (2 Vertiefungen)
 - Chlamydia pneumoniae* IgG Positive Kontrolle (2 Vertiefungen)
 - Verdünte Proben (in die restlichen Vertiefungen).
- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 60 Minuten ohne Schütteln bei 37°C inkubieren.
- Nach dem Inkubieren die Mikrotiterstreifen waschen. Flüssigkeit absaugen und jede Vertiefung 3 mal mit 300 µl Waschlösung waschen. Nach dem letzten Waschen die Mikrotiterstreifen über Kopf umgedreht stark auf einem saugfähigen Papier aufklappen, um alle Waschlösungsreste zu entfernen. Sicherstellen, dass keine Luftblasen in den

- Vertiefungen zurückbleiben.
- 100 µl *Chlamydia pneumoniae* IgG Antikörper Reagenz in alle Vertiefungen pipettieren.
- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 60 Minuten ohne Schütteln bei 37°C inkubieren.
- Nach der Inkubation Waschvorgang wiederholen.
- 100 µl *Chlamydia* Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren. Die Zeit des Inkubationsvorgangs wird ab dem Hinzufügen der Substratlösung zur ersten Vertiefung gemessen.
- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 10 Minuten lang ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- 25 µl *Chlamydia* Stopplösung in alle Vertiefungen in der gleichen Zeitabfolge wie für die Zugabe der Substratlösung pipettieren und 10 Sekunden vorsichtig auf einem Plattenschüttler mischen.
- Eine Endpunktablesung bei 405 nm vornehmen und die Daten wie im Benutzerhandbuch des Mikroplattenlesers beschrieben verarbeiten. ('blank'- Korrektur vornehmen)

BERECHNUNG UND AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Notizen: Alle Rohdaten für 'blank' sind durch Subtrahieren des 'blank' OD vom Rohdaten OD anzupassen.

Die Ergebnisse werden nach folgender Formel berechnet;

$$I = \frac{(R \times S)}{[(R \times N) + (0,2 \times P)]}$$

I = Probenindex

R = Referenzwert (bei Positive Kontrolle angezeigt Wert Fläschchenetikettwert; analyt- & losspezifisch)

S = korrigierter Proben OD *

N = korrigierter Negative Kontrolle OD* (-N => 0)†

P = korrigierter Positive Kontrolle OD*

(* korrigiert durch Subtrahieren des 'blank' OD)

(† Wenn N negativ ist, mit Null ersetzen)

Auswertung

Aus nachfolgender Tabelle Ergebnisse auswerten. Da der Probenindex an zweifelhaften Proben 10% falsch positive Ergebnisse zeigen kann, sollte der Test nach 7-10 Tagen mit neu entnommenem Serum wiederholt werden.

Auslegung aller Probenergebnisse

Probenindex	Ergebnis	
≥ 3,00	stark positiv	++
1,10 – 2,99	positiv	+
0,90 – 1,09	zweifelhaft	=
< 0,90	negativ	-

Ergebnisanalyse bei Verdacht in erwachsenen (> 16 Jahre alt) Patient

IgG	IgA	Ergebniserklärung
++	++	Höchstwahrscheinlich akute oder vorhandene Infektion.
++	+	
++	-	
+	++	
-*	++*	
+	+	Mögliche Infektion, steigende Antikörperkonzentrationen würden dies jedoch bestätigen. - daher erneuter Test erforderlich
-*	+*	
+	-	Gewisse leichte Möglichkeit einer Infektion - vielleicht vergangene Infektion; erneuter Test erf.
-	-	Niedrige Wahrscheinlichkeit einer Infektion, steigende Antikörperkonzentrationen würden jedoch auf kürzlich zurückliegende Infektion hinweisen. Erneuter Test erforderlich

* IgA positiv und IgG negativ ist sehr selten (< 2-3% aller Fälle)

Notizen:

- Wie bei allen anderen Diagnostikverfahren, sollten die durch die Verwendung des *ELEGANCE Chlamydia pneumoniae* IgG ELISA erhaltenen Werte Daten hervorbringen, die zusätzlich zu denjenigen des Arztes zur Verfügung stehen. Erneute Tests zum Prüfen eines Antikörperanstiegs sollten im Fall von zweifelhaften Ergebnissen stets durchgeführt werden.
- Bei Kindern (< 16 Jahre alt) lassen positive Ergebnisse eine laufende Infektion vermuten. Ein erneuter Test zum Prüfen eines Antikörperanstiegs und zur Bestätigung eines Infektionszustands ist erforderlich.
- Anhaltewert = $\left[\frac{R \times N}{P} \right] + 0,2$

GRENZEN DES VERFAHRENS

Für einen gültigen Test sollten folgende Richtlinien befolgt werden:

- Sensitivität: Der gemessene OD kann bei unterschiedlichen Plattenphotometern und Gebrauchsbedingungen stark variieren. Es ist wichtig, dass die Positive Kontrolle einen OD aufweist, der bedeutend höher als der Anhaltewert ist. Der gemessene OD der Positive Kontrolle lag beim Herstellungstest bei Bioclone im Bereich von 0,5 bis 1,5. Der gemessene OD der Negative Kontrolle lag beim Herstellungstest bei Bioclone unter 0,2; dieser OD kann sich im Verlauf der Zeit leicht erhöhen. Der korrigierte Negative Kontrolle OD (N) sollte bei ≤ 0,05 liegen
- Spezifität: Negative Kontrollergebnisse sollten einen negativen Probenindex zeigen. Positive Kontrollergebnisse sollten einen positiven Probenindex aufweisen.
- Reproduzierbarkeit: Für mehr als 10 Ergebnisse bei Positive Kontrolle innerhalb eines Tests sollte der prozentuale Variationskoeffizient (%CV) ≤ 20 sein.

TESTCHARAKTERISTIKA

Spezifität

In einem Mausmodell zeigten die Mausantikörper gegen *Chlamydia trachomatis* eine 3%ige Kreuzreaktivität im Test gegen gereinigtes *Chlamydia pneumoniae* Antigen. Mausantikörper gegen *Chlamydia psittaci* zeigten eine 25%ige Kreuzreaktivität im Test gegen gereinigtes *Chlamydia pneumoniae* Antigen, was unter dem Gesichtspunkt des geringen Auftretens von *Chlamydia psittaci* Infektionen in der allgemeinen Bevölkerung akzeptabel ist.

Interferenz

Es trat keine Wirkung innerhalb der nachfolgenden Konzentrationen auf:

Indirekt Bilirubin 25 mg/dl Rheumatoider Faktor 1000 IU/ml
Direkt Bilirubin 25 mg/dl Hämoglobin 500 mg/dl

Probenbereiche (Erwachsene; > 16 Jahre alt)

In einer Studie an normalen Erwachsenen (n=592) hatten 5% einen Probenindex von ≥ 3,0; bei Erwachsenen mit Verdacht auf Infektion (n=106) hatten 50% einen Probenindex ≥ 3,0 (siehe Abb. 1 in der technischen Beschreibung).

In den 106 Fällen hatten alle Proben mit Probenindex ≥ 3,0 auch M-IF* Titer ≥ 1/512 (hinweisend auf eine laufende Infektion; siehe Studie 1 in der technischen Beschreibung).

In einer Studie an Patienten mit akuten Atemproblemen (n=418) bestand ein starker Zusammenhang mit M-IF* (siehe Studie 2 in der technischen Beschreibung). Die mit Hilfe von Westernblot festgestellten Abweichungen geben der ELISA Technik einen starken Vorzug.

[* Japanische Standardmethode]

** Technischer Schriftsatz verfügbar auf Wunsch.

BESTELLINFORMATION

Der *ELEGANCE Chlamydia pneumoniae* IgG ELISA wird hergestellt von:

Bioclone Australia Pty Limited
71-73 Railway Parade, Marrickville
NSW 2204, AUSTRALIEN.
Telefon +61 (0) 2 9517 1966 Befreien Sie Ruf 1800 251 138
Fax +61 (0) 2 9517 2990
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

TECHNISCHER KUNDENDIENST

Vollständiger technischer Kundendienst ist erhältlich durch Anruf bei Bioclone unter der Nummer +61 (0) 2 9517 1966 oder Befreien Sie Ruf 1800 251 138

NOTIZEN: Vorliegender Kit wird mit Ausnahme von Japan weltweit durch Bioclone Australia Pty Limited unter Lizenz der Hitachi Chemical Co., Ltd. hergestellt und verkauft. Einige in vorliegendem Dokument enthaltene Daten stammen von Testergebnissen des äquivalenten HITAZYME Tests, der von Hitachi Chemical Co., Ltd. hergestellt wird.

TEILENUMMER: KBCPGG Ausg. 12

Rev. Datum: 4 September 2006