



SeroFIA™ C.pneumoniae

Imunofluorescenční test na detekci specifických IgG, IgA a IgM protilátek proti *C. pneumoniae* v lidských sérech.

Souprava pro 105 stanovení
(Katalogové číslo 590-01)

Skladovat při teplotách 2°C až 8°C. Nezmrazovat.
Pouze pro *In Vitro* diagnostické použití.
Pouze pro profesionální použití

Dovází: GALI spol. s r.o.
Libštát 314, 512 03
Tel. 481 689 050
Fax. 481 689 051
E-mail: info@gali.cz



Vyrábí: Savon Diagnostics Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 77610
ISRAEL
Tel. +972.8.8562920
Fax. +972.8.8523176
E-mail: support@savondiagnosics.com

Použití

SeroFIA™ *C.pneumoniae* je semi-quantitativní imunofluorescenční test pro diferenciální stanovení specifických IgG, IgA a IgM protilátek proti *C.pneumoniae* v jediném vzorku lidského séra.

Pro *In Vitro* diagnostické účely.

Úvod

Chlamydia, rod vysoce specializovaných gram-negativních bakterií, tvoří čtyři druhy: *Ch. trachomatis*, *Ch.pneumoniae* (TWAR), *Ch. psittaci* a *Ch. pecorum*.

Ch. trachomatis je známa v 15 sérotypech, které obsahují v různém stupni imunogenní epitopy.

Ch. trachomatis je nejčastějším původcem sexuálně přenosných onemocnění. Je původcem negonokokové uretritidy (NGU) a epididymitis u mužů, cervitidy, uretritidy a zánětů dutiny pánevní u žen, Reiterova syndromu u HLA-B27 haplotypových jedinců a neonatální konjunktivitidy a pneumonie u novorozenců (2-6).

Ch. pneumoniae je důležitý respirační patogen, bývá nalezena asi u 10 % starších dospělých s „community acquired“ pneumonií. *Ch. pneumoniae* je asociována s infekcemi horních a dolních cest dýchacích, pneumonií, astmatem, bronchitidou, faryngitidou, výskytem srpkovitých erytrocytů, koronárním srdečním onemocněním a Guillain-Barre syndromem (7-9).

Ch. psittaci jsou primárními patogeny různých druhů živočichů. Měkkýši, ptáci, savci, mohou být důvodem některých případů pneumonií.

V mnoha diagnostických laboratořích se v diagnostice chlamydiových infekcí rutinně používá sérologických testů. Sérologické testy slouží jako neinvazivní postupy k identifikaci distálních a chronických chlamydiových infekcí (10,11), kde přímé detekční metody jsou zřídka úspěšné. Navíc, přítomnost určitého typu protilátek může také indikovat stav onemocnění.

Primární chlamydiová infekce je charakteristická predominantní IgM odpovědí za 2-4 týdny a následnou IgG a IgA odpovědí za 6-8 týdnů. Po akutní infekci *Ch. pneumoniae* mizí IgM protilátky obvykle za 2-6 měsíců (12), titry IgG protilátek stoupnou a obvykle pomalu klesají, zatímco IgA protilátky mají tendenci rychle vymizet (13).

Sekundární chlamydiové infekce jsou charakterizovány absencí IgM odpovědi a okamžitou IgG a IgA odpovědí (9). Prokázalo se, že IgA protilátky jsou vhodným imunologickým znakem primární chronické a rekurentní infekce. Tyto protilátky obvykle klesají rychle k základním hladinám v důsledku léčení a eradikace chlamydiové infekce (1-6, 10, 11).

Persistence zvýšených titrů IgA protilátek se obvykle považuje za známku chronické infekce (13). Studie provedená se souborem starších pacientů s respiračními infekcemi prokázala, že pětina infekcí *Ch. pneumoniae* vymizela bez průkazu specifických IgA (14). IgG protilátky persistují dlouho a klesají velmi zvolna. Z toho důvodu přítomnost IgG protilátek indikuje hlavně chlamydiovou infekci v neurčitěm čase. Nicméně čtyřnásobný vzestup IgG specifických protilátek nebo jejich vysoká hladina mohou indikovat nastupující chronickou nebo systémovou infekci.

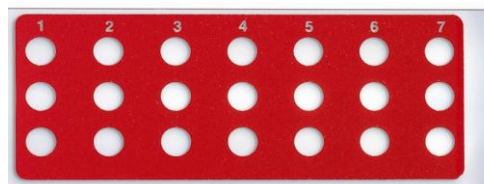
SeroFIA™ C.pneumoniae je mikro-IF test založený na principu MIF. Podobně jako MIF používá SeroFIA™ jako antigen purifikovaná elementární tělíska *C. pneumoniae* SZ-1).

Princip testu

- Purifikovaná elementární tělíska (EBs) *C.pneumoniae* (*C. pn*) jsou fixována na jamky sklíček.
- Naředěná séra pacientů se inkubují 30 min. při 37°C v jamkách.
- Promytím se odstraní nenavázané složky séra.
- Aplikuje se fluoresceinem konjugovaný anti-lidský IgG, IgA nebo IgM. Inkubuje se 30min. při 37°C.
- Nenavázaný konjugát se odstraní promytím.
- Následuje sušení skel a montování, přidají se tři kapky montovacího média.
- Sklíčka se prohlížejí použitím fluorescenčního mikroskopu. Pozitivní reakce je jasná jablkově zelená fluorescence EBs na tmavém pozadí.
- Pro kvalitativní stanovení je dostatečné jediné ředění séra. Pro semikvantitativní stanovení je nutno použít titraci do konečného ředění.

Souprava obsahuje

- 1. Reakční sklíčka (3x7 jamek):** Sklíčka jsou kautovaná antigenem *C. pneumoniae*. Každé sklíčko je zabaleno v hliníkovém obalu se silikagelem. **5 x**



2. **Koncentrovaný promývací pufr (x20):** PBS-Tween pufr, (pH 7.4-7.6) obsahuje NaCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄ a Tween 20.
1 lahvička, 100ml
3. **Roztok na ředění sér:** PBS pufr. Obsahuje želatínu, hovězí sérový albumin, MgCl₂ a <0.1% azidu sodného.
1 lahvička, 80ml
4. **Negativní kontrola:** Lidské sérum bez obsahu protilátek IgG, IgA, a IgM k *C. pneumoniae*, *C. trachomatis*, *C. psittaci*. Obsahuje <0.1% azidu sodného. Neředí se.
1 lahvička, 0.5 ml
5. **IgG Positivní Kontrola:** Lidské sérum pozitivní na IgG protilátky k *C. pneumoniae*. Obsahuje <0.1% azidu sodného. Neředí se.
1 lahvička, 0.2ml
6. **IgA Positivní Kontrola:** Lidské sérum pozitivní na IgA protilátky k *C. pneumoniae*. Obsahuje <0.1% azidu sodného. Neředí se
1 lahvička, 0.2ml
7. **IgM Positivní Kontrola:** Lidské sérum pozitivní na IgM protilátky k *C. pneumoniae*. Obsahuje <0.1% azidu sodného. Neředí se.
1 lahvička, 0.2ml
8. **IgG FITC-Conjugát:** Fluoresceinem značený králičí anti-lidský IgG (γ – řetězec specifický). Neředí se.
1 lahvička, 3.3ml
9. **IgA FITC-Conjugát:** Fluoresceinem značený králičí anti-lidský IgA (alfa – řetězec specifický). Neředí se.
1 lahvička, 3.3ml
10. **IgM FITC-Conjugát:** Fluoresceinem značený králičí anti-lidský IgM (μ – řetězec specifický). Neředí se.
1 lahvička, 3.3ml
11. **IgG Inaktivační reagent:** anti-lidské IgG s obsahem <0.1% azidu sodného. **(Pouze pro IgM.)**
1 lahvička, 4ml
12. **Montovací tekutina:** Obsahuje <0.1% azidu sodného.
1 kapací lahvička, 1.5ml
13. **Krycí sklička** **1 unit**
14. **Návod k použití** **1**

Potřebný materiál, který není součástí soupravy.

1. Čistá mikrotitrační destička nebo zkumavky na ředění sér.
2. Centrifuga
3. Nastavitelné mikropipety (5 – 50, 50 – 200, 200 – 1000 mikrolitrů) a příslušné špičky
4. Odměrný válec na 1 L
5. Vortex třepačka
6. Vodní lázeň 37°C s víkem nebo vlhká komůrka umístěná v termostatu 37°C
7. Plastová miska pro inkubaci sklíček
8. Destilovaná nebo redestilovaná voda na ředění koncentrovaného promývacího pufru
9. Plastová stříčka na promývání
10. Nosič sklíček a barvicí květa
11. Časoměřič
12. Fluorescenční mikroskop s filtry vhodnými pro hodnocení FITC fluorescence se zvětšením 400x až 1000x

Upozornění a zásady bezpečnosti

Pouze pro *In Vitro* diagnostické použití.

1. Tato souprava obsahuje lidská séra, která byla testována technikami podle FDA. Séra jsou negativní na HBsAg a protilátky proti HCV a HIV, nicméně, jelikož žádná známá metoda nemůže zaručit s úplnou jistotou, že výrobky

derivované z lidské krve nepřenašejí infekci, se všemi komponenty z lidské krve, obsaženými v této soupravě se musí zacházet jako s potenciálně infekčním sérem nebo krví, způsobem identickým (nebo podobným) s doporučením publikovaným v CDC/NIH manuálu „Biobezpečnost mikrobiologických a lékařských laboratoří“, 1988.

2. Chlamydiový antigenní materiál, kterým jsou koutovaná sklička, byl inaktivován a obsah živých organismů je nedetekovatelný. Nicméně, jelikož žádná známá metoda nemůže zaručit s úplnou jistotou, že produkty derivované z patogenních organismů nepřenašejí infekci, se skličky se musí zacházet jako s potenciálně biohazardním materiálem, tj. způsobem publikovaným v CDC/NIH manuálu (viz čl. 1).
3. Azid sodný tvoří explozivní azidy olova nebo mědi v potrubí laboratorních odpadů. Aby se předešlo akumulaci těchto sloučenin, laboratorní výlevky se musí promývat velkým objemem vody.
4. Pipetování ústy je nepřipustné.
5. Žádná z reagensů této soupravy nesmí přijít do styku s pokožkou.
6. Při provádění testu a manipulaci se séry je nutné používat ochranné gumové rukavice. Po sejmutí rukavic je nutné pečlivě umýt ruce.
7. Zařízení, tekutiny a předměty, které přišly do přímého styku z lidskými séry, se považují za potenciálně kontaminované. Musí se sterilizovat nebo inaktivovat po použití a před mytím nebo vyřazením po použití. Inaktivace může být provedena buď autoklávováním při 121°C nejméně 1 h nebo vystavením účinku roztoku chlornanu sodného v 5% finální koncentraci (po dobu nejméně 30 min.)
8. FITC – konjugát obsahuje Evansovu modř, která je kancerogenní. Roztok nesmí přijít do styku s pokožkou a očima.
9. Montovací medium obsahuje korozivní látky. Nesmí přijít do styku s pokožkou a nesmí dojít k jeho inhalaci. V případě kontaktu s pokožkou a očima je nutné provést okamžitý oplach (výplach) nadbytkem vody.

Uchovávání a trvanlivost reagensů

Všechny dodávané materiály je nutno skladovat při teplotě 2 až 8°C. Reagensie, uchovávané při teplotě 2 až 8°C, jsou stabilní do data expirace, vyznačeného na obalu soupravy. Nepoužívejte složky soupravy po datu expirace.

Expozice složek soupravy obvyčejné teplotě po dobu několika hodin nezpůsobí zničení reagensů.

Nevystavujte reagensie silnému světlu.

Reagensie nezmrazujte.

Odběr vzorků a příprava vzorků

Odběr vzorků

Vzorky sér se odebírají asepticky standardními technikami. Tepelně inaktivovaná séra nemohou být použita. Nedoporučuje se použití lipemických, zakalených a kontaminovaných sér. Drobné částice a sraženiny v séru mohou způsobovat chybné výsledky. Tyto vzorky by měly být před stanovením vyčerény centrifugací nebo filtrací.

Skladování

Vzorky by se měly skladovat při teplotě 2-8°C pokud jsou testovány během 7 dní (doporučuje se přidavek 0,1% azidu sodného). Pro delší uchování je nutno alikvoty séra uchovávat

při teplotě -20°C . Vyhněte se opakovanému mrazení a rozmrazování séra.

Validita testu

Aby byl test platný, musí být splněna následující kritéria. Jestliže kontroly nemají výše uvedené charakteristiky, test se považuje za neplatný a musí být zopakován.

Pozitivní kontroly vykazují střední až intenzivní jablkově zelenou fluorescenci partikulí elementárních tělísek *C.pneumoniae*.

Negativní kontrola vykazuje zanedbatelnou reaktivitu (barvení) s *C. pneumoniae*.

Interpretace a význam výsledků

Doporučuje se hodnotit jako prvé kontrolní jamky, aby se zajistila správná interpretace výsledků.

Fluorescence klinických vzorků se hodnotí následujícím způsobem:

+ Střední až intenzivní, ostrá nebo difuzní jablkově zelená fluorescence elementárních tělísek.

± Fluorescence elementárních tělísek je zřetelná, ale tlumená. Považuje se za „end-point“ titru séra. Titr daného séra je definován jako nejvyšší ředění, které ještě vykazuje zřetelnou fluorescenci. Další ředění má vykazovat fluorescenci jako negativní sérum.

- Bez fluorescence nebo se slabou fluorescencí pozadí bez zřetelné morfologie chlamydií.

Pracovní postup pro IgG

Příprava vzorků

Pro prvotní skrining se séra ředí v poměru 1:64 přidáním 10 μl séra do 630 μl ředícího roztoku na séra (Serum Diluent).

Pro stanovení titrů („end-point“ titrace) se séra ředí (počínaje od ředění 1:64) ředící dvojkovou řadou.

Poznámka: Součástí každého běhu by měla být jedna jamka s negativní a jedna jamka s IgG pozitivní kontrolou. **Pozitivní kontrola naředěná 1:64 může být použita jako end-point titrace.**

1. Před zahájením testu se sklíčka, reagentie a séra pacientů nechají vytemperovat při laboratorní teplotě.
2. Koncentrovaný promývací pufr se ředí v poměru 1:20 přidáním 50 ml koncentrovaného promývacího pufru do 950 ml deionizované nebo destilované vody. Naředěný pufr se může uchovávat při teplotě 2 až 8°C nejvýše po dobu dvou týdnů.
3. Do příslušných jamek se pipetuje 10 μl kontrol nebo naředěného séra.
4. Sklíčka se inkubují ve vlhké komůrce při 37°C po dobu 30 minut.

5. Sklíčka se vyjmou z vlhké komůrky a každé sklíčko se jemně opláchně proudem naředěného promývacího pufru pomocí stříčky. Sklíčka se promyjí ponořením do květy osahující promývací pufr. Po 10 min se vyjmou, ponoří do destilované vody, vyjmou a ponechají na vzduchu schnout.
6. Do každé jamky se pipetuje 10 μl FITC konjugátu.
7. Inkubuje se při teplotě 37°C po dobu 30 minut.
8. Opláchnutí a promytí skel se opakuje podle kroku 5.
9. Podél středu každého sklíčka se kápnou 3 kapky montovacího roztoku. Jamky se překryjí krycím sklem. Případné vzduchové bubliny se odstraní jemným tlakem na krycí sklíčko.
10. Výsledky se hodnotí pomocí fluorescenčního mikroskopu při zvětšení 400x až 1000x. Nejlepší výsledky dává hodnocení preparátů v den jejich přípravy. Jestliže to není možné, montované preparáty se mohou skladovat ve tmě při 2 – 8°C po dobu nejvýše tří dnů.

Fluorescence při titru 1:64	Interpretace
+	Přítomnost specifických IgG protilátek k <i>C.pneumoniae</i>. Doporučuje se end-point titrace k rozlišení mezi současnou, nedávnou nebo dříve proběhlou infekcí.
±	Indikuje možnou expozici k <i>C. pneumoniae</i>. Doporučuje se testování druhého vzorku za 2-4 týdny ¹
-	Negativní. Nedetekovatelné IgG protilátky k <i>C.pneumoniae</i> .

1. Pokud se odebírá druhý vzorek, měl by být vždy testován současně s prvním. Pokud opět dostanete hraniční výsledek, vzorek se považuje za negativní.

Význam IgG end-point titrace

Endpoint titrace se provádí, jestliže vyžadujeme semikvantitativní výsledky nebo jestliže je prokázána reaktivita (fluorescenční zbarvení) s více než jedním druhem chlamydií; potom ten antigen, který je reaktivní do nejvyššího titru séra (nejméně 4x vyššího, než ostatní antigeny), indikuje druh chlamydie odpovědné za infekci.

Chlamydia pneumoniae IgG

$\geq 1:64$ a $\leq 1:512$	svědčí o infekci v neurčitým čase. Musí se testovat druhý vzorek séra, odebraný o 2-3 týdny později. Jestliže druhý vzorek má titr větší než 512, nebo nejméně 4x vyšší než první vzorek, je to důkaz právě probíhající infekce. Nezměněné titry mohou svědčit o dříve proběhlé infekci.
$>1:512$	indikuje právě probíhající infekci.

Upozornění:

Ve vzácných případech může být pozorována na jednom nebo více chlamydiových antigenech jasná a densní fluorescence velmi malých partikulí (menších než elementární tělíska). Tato fluorescence může představovat reaktivitu k lipopolysacharidům. Je nutno provést testování IgA a IgM protilátek nebo testování druhého vzorku séra, odebraného po 2-3 týdnech. Vzorek se považuje za negativní, jestliže IgM a IgA jsou negativní a IgG výsledky jsou opakovaně shodné.

Pracovní postup pro IgA

Příprava vzorků

Pro prvotní skríníng se séra ředí v poměru 1:32 přidáním 10 μ l séra do 310 μ l ředícího roztoku na séra (Serum Diluent). Pro stanovení titrů („endpoint“ titrace) se séra ředí (počínaje od ředění 1:32) ředící dvojkovou řadou.

Poznámka: Součástí každého běhu by měla být jedna jamka s negativní a jedna jamka s IgA pozitivní kontrolou. **Pozitivní kontrola naředěná 1:128 může být použita jako end-point titrace.**

1. Před zahájením testu se sklíčka, reagentie a séra pacientů nechají vytemperovat při laboratorní teplotě.
2. Koncentrovaný promývací pufr se ředí v poměru 1:20 přidáním 50 ml koncentrovaného promývacího pufru do 950 ml deionizované nebo destilované vody. Naředěný pufr se může uchovávat při teplotě 2 až 8°C nejvýše po dobu dvou týdnů.
3. Do příslušných jamek se pipetuje 10 μ l kontrol nebo naředěného séra.
4. Sklíčka se inkubují ve vlhké komůrce při 37°C po dobu 30 minut.
5. Sklíčka se vyjmou z vlhké komůrky a každé sklíčko se jemně opláchne proudem naředěného promývacího pufru pomocí stříčky. Sklíčka se promyjí ponořením do kyvety obsahující promývací pufr. Po 10 min se vyjmou, ponoří do destilované vody, vyjmou a ponechají na vzduchu schnout.
6. Do každé jamky se pipetuje 10 μ l FITC konjugátu.
7. Inkubuje se při teplotě 37°C po dobu 30 minut.
8. Opláchnutí a promytí skel se opakuje podle kroku 5.
9. Podél středu každého sklíčka se kápnou 3 kapky montovacího roztoku. Jamky se překryjí krycím sklem. Případné vzduchové bubliny se odstraní jemným tlakem na krycí sklíčko.
10. Výsledky se hodnotí pomocí fluorescenčního mikroskopu při zvětšení 400x až 1000x. Nejlepší výsledky dává hodnocení preparátů v den jejich přípravy. Jestliže to není možné, montované preparáty se mohou skladovat ve tmě při 2 – 8°C po dobu nejvýše tří dnů.

Fluorescence při titru 1:32	Interpretace
+	Přítomnost specifických IgA protilátek k <i>C. pneumoniae</i>. Titr 1:32 svědčí o pravděpodobném výskytu infekce
±	Indikuje možnou expozici k <i>C. pneumoniae</i>. Doporučuje se testování druhého vzorku za 2-4 týdnů ²
-	Negativní. Nedetekovatelné IgA protilátky k <i>C.pneumoniae</i> .

1. Pokud se odebírá druhý vzorek, měl by být vždy testován současně s prvním. U pacientů s probíhající infekcí *C.pneumoniae*, by mělo dojít ke zvýšení titru protilátek. Pokud opět dostanete hraniční výsledek, vzorek se považuje za negativní.

Upozornění:

Ve vzácných případech může být pozorována na jednom nebo více chlamydiových antigenech jasná a densní fluorescence velmi malých partikulí (menších než elementární tělíska). Tato fluorescence může představovat reaktivitu k lipopolysacharidům. Je nutno provést testování IgG a IgM protilátek nebo testování druhého vzorku séra, odebraného po 2-3 týdnech. Vzorek se považuje za negativní, jestliže IgM a IgG jsou negativní a IgA výsledky jsou opakovaně shodné.

Pracovní postup pro IgM

Příprava vzorků

1. Přidejte 5 μ l séra pacienta ke 45 μ l IgG inaktivačního reagentu. Dobře promíchejte.
2. Ke každým 50 μ l takto předpřipraveného séra přidejte 50 μ l roztoku k ředění sér. Takto získaná séra mají konečné ředění 1:20.

Pro stanovení titrů („endpoint“ titrace) se séra ředí počínaje od ředění 1:20.

Poznámka: Součástí každého běhu by měla být jedna jamka s negativní a jedna jamka s IgM pozitivní kontrolou. **Pozitivní kontrola naředěná 1:64 může být použita jako end-point titrace.**

1. Před zahájením testu se sklíčka, reagentie a séra pacientů nechají vytemperovat při laboratorní teplotě.
2. Koncentrovaný promývací pufr se ředí v poměru 1:20 přidáním 50 ml koncentrovaného promývacího pufru do 950 ml deionizované nebo destilované vody. Naředěný pufr se může uchovávat při teplotě 2 až 8°C nejvýše po dobu dvou týdnů.
3. Do příslušných jamek se pipetuje 10 μ l kontrol nebo naředěného séra.
4. Sklíčka se inkubují ve vlhké komůrce při 37°C po dobu 30 minut.

5. Sklíčka se vyjmou z vlhké komůrky a každé sklíčko se jemně opláchne proudem naředěného promývacího pufru pomocí stříčky. Sklíčka se promyjí ponořením do kyvety osahující promývací pufr Po 10 min se vyjmou, ponoří do destilované vody, vyjmou a ponechají na vzduchu schnout.
6. Do každé jamky se pipetuje 10 µl FITC konjugátu.
7. Inkubuje se při teplotě 37°C po dobu 30 minut.
8. Opláchnutí a promytí skel se opakuje podle kroku 5.
9. Podél středu každého sklíčka se kápnou 3 kapky montovacího roztoku. Jamky se překryjí krycím sklem. Případné vzduchové bubliny se odstraní jemným tlakem na krycí sklíčko.
10. Výsledky se hodnotí pomocí fluorescenčního mikroskopu při zvětšení 400x až 1000x. Nejlepší výsledky dává hodnocení preparátů v den jejich přípravy. Jestliže to není možné, montované preparáty se mohou skladovat ve tmě při 2 – 8°C po dobu nejvýše tří dnů.

Fluorescence při titru 1:20	Interpretace
+	Přítomnost specifických IgM protilátek k <i>C.pneumoniae</i>. Titr $\geq 1:20$ svědčí o pravděpodobném výskytu infekce
±	Indikuje možnou expozici k <i>C.pneumoniae</i>. Doporučuje se testování druhého vzorku za 2-4 týdny ¹
-	Negativní. Nedetekovatelné IgM protilátky k <i>C.pneumoniae</i> .

1. V případě hraničního výsledku se za 2-4 týdny odebírá druhý vzorek. Ten by měl být vždy testován současně s prvním. Pokud opět dostanete hraniční výsledek, vzorek se považuje za negativní.

Význam IgM end-point titrace

Endpoint titrace se provádí, jestliže jsou vyžadovány semi-kvantitativní výsledky.

Ke získání kompletního protilátkového profilu, by se mělo testovat ve třídě IgG, IgA i IgM.

Interpretace výsledků založených na detekci IgA, IgM a IgG protilátek.

Hladina protilátek <i>C.pneumoniae</i>			Interpretace výsledků
IgM	IgG	IgA	
Negativní	Negativní	Negativní	Neindikuje infekci <i>C.pneumoniae</i>
Positivní	Negativní nebo Positivní	Negativní nebo Positivní	Indikuje probíhající infekci
Negativní	Positivní	Negativní	Indikuje proběhlou nebo současnou infekci.
Negativní	Positivní nebo Negativní	Positivní	Vypovídá o současné nebo chronické infekci

Omezení testu

1. Konečná diagnóza nemůže být určena na základě výsledku jediného sérologického testu – v úvahu se musí brát všechny klinické a laboratorní údaje.
2. Vzorky odebrané příliš brzy v průběhu primární infekce nemusejí obsahovat detekovatelné protilátky. Jestliže chlamydiová infekce je suspektní, je nutno vyšetřit (paralelně s prvním sérem) druhý vzorek séra, odebraného o 14 -21 dní později.
3. Reaktivita séra s více druhy chlamydií může být způsobena expozicí více než jednomu druhu nebo přítomností křížově reagujících protilátek.
4. Optika mikroskopu a podmínky světelného zdroje a jeho typ mohou ovlivnit intenzitu fluorescence a výšku titru.

Charakteristika účinnosti

Studie byla provedena v nezávislém lékařském zařízení. Byla použita séra suspektních pacientů infikovaných *C. pneumoniae*.

Výsledky získané použitím soupravy IgG SeroFIA™ vs. Reference MIF

	MIF	Positivní	Negativní	Celkem
SeroFIA™				
Positivní		120	2	122
Negativní		0	60	62
Celkem		120	62	182

Sensitivita: $120/120 \times 100 = 100\%$

Specifická: $60/62 \times 100 = 96,7\%$

Celková shoda: $180/182 \times 100 = 98,9\%$

Výsledky získané použitím soupravy IgA SeroFIA™ vs. Reference MIF

	MIF	Positivní	Negativní	Celkem
SeroFIA™				
Positivní		39	0	39
Negativní		0	74	74
Celkem		39	74	113

Sensitivita: $39/39 \times 100 = 100\%$

Specifická: $74/74 \times 100 = 100\%$

Celková shoda: $113/113 \times 100 = 100\%$

Výsledky získané použitím soupravy IgM SeroFIA™ vs. Reference MIF

	MIF	Positivní	Negativní	Celkem
SeroFIA™				
Positivní		18	4	22
Negativní		1	123	124
Celkem		19	127	146

Sensitivita: $18/19 \times 100 = 94,7\%$

Specifická: $123/127 \times 100 = 96,8\%$

Celková shoda: $141/146 \times 100 = 96,6\%$

Literatura

1. Piura, B., Sarov, I., Sarov, B., Kleinman, D., Chaim, W. and Insler, V. (1985) Serum IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in salpingitis patients as determined by the immunoperoxidase assay. Eur. J. Epidemiol. 1: 110-116.
2. Tsunekawa, T. and Kumamoto, Y. (1989) A study of IgA and IgG titers of *C.trachomatis* in serum and prostatic secretion in chronic prostatitis. J.J.A. Inf. Dis. 63(2): 130-137.
3. Kaneti, J. et al (1988) IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in acute epididymitis. Europ. Urol. 14: 323-327.
4. Kletter, Y., Caspi, D., Yarom, M., Sarov, B., Sarov I., and Tanay, A. (1988) Serum IgA and IgG Antibodies Specific to *Chlamydia* in Patients with Reiter's Syndrome (RS) In: Proceedings of The European Society for *Chlamydia* Research, Societa Editrice Esculapio, Bologna, p.170.
5. Stutman, H.R., Rettig, P.J. and Reyes, S. (1984) *Chlamydia trachomatis* as a cause of Pneumonitis and pleural effusion. J. Pediat. 104: 588-591.
6. Paran, H., Heimer, D. and Sarov, I. (1986) Serological, clinical and radiological findings in adults with broncho- pulmonary infections caused by *Chlamydia trachomatis*. Isr. J.Med. Sci. 22: 823-827.
7. Grayston J. T., Campbell, L.A., Kuo, C.C., Mordhorst, C.H., Saikku, P., Thom, D.H. and Wang, S.P. (1990). A new respiratory tract pathogen. *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. J. Infect. Dis. 161:618-625.
8. Hahn D. L., Dodge, R. W. and Golubjatnikow, R. (1991). Association of *Chlamydia*

pneumoniae (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma. JAMA 266: 225-230

9. Saikku P., Mattila, K., Nieminen, M.S., Huttunen, J.K., Leinonen, M., Ekman, M.R., Makela, P.H., and Valtonen, V. (1988). Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infection. Lancet II: 983-986.
10. Sarov, I., Kleinman, D., Cevenini, R., Holcberg, G., Potashnik, G., Sarov, B. and Insler, V. (1986) Specific IgG and IgA antibodies to *Chlamydia trachomatis* in infertile women. Int. J. Fertil. 31 (3): 193-197.
11. Puolakkainen, M., Saikku, P., Leinonen, M., Nurminen, M., Vaananen, P. and Makela, P.H. (1984) *Chlamydia pneumoniae* and its serodiagnosis in infants. J. Infect. Dis. 149: 598-604.
12. Grayston, J.T., L.A. Campbell, C.H. Mordhorst, P. Saikku, D. Thom and S.P. Wang. (1989) A New Respiratory Pathogen: *Chlamydia pneumoniae* Strain TWAR. J.Inf.Dis. 161: 618-25
13. Saikku, P.,M. Leinonen, L. Tenkanen, E. Linnanmaki, M-R Ekman, V. Manninen, M. Manttari, M.H. Frick, J.K. Huttunen. (1992) Chronic *Chlamydiae pneumoniae* Infection as a Risk Factor for Coronary Heart Disease in the Helsinki Heart Study. Ann. of Int. Med. 116: 273-278.
14. Leinonen, M., H. Sryjala, P. Kujala and P. Saikku. (1991). Serological diagnosis of *Chlamydiae pneumoniae* (Cpn) pneumoniae in adults. In: Abstracts of 31st ICAAC, Chicago, Illinois, Sept 29 - Oct 2, 1991. Washington, D.C. Aner. Soc. Microbiol, p.209.



European Authorized Representative: Obelis s.a.
 Boulevard Général Wahis 53
 1030 Brussels, BELGIUM
 Tel: +(32) 2. 732.59.54
 Fax: +(32) 2.732.60.03
 E-Mail : mail@obelis.net