

GEBRAUCHSANWEISUNG



DE

Anti-*L. pneumophila* IgG/IgM/IgA

REF 3Z15051
SM3Z15051

IVD

CE

Rx Only

Σ 96

VERWENDUNGSZWECK

Das Anti-*L. pneumophila* IgG/IgM/IgA ist ein ELISA-basiertes Testsystem zum qualitativen Nachweis von Gesamt-Antikörpern (IgG/IgM/IgA) gegen *Legionella pneumophila* Serogruppen 1–6 in Humanserum. Dieser Test ist zur In-vitro-Diagnostik vorgesehen.

HINTERGRUND

L. pneumophila wurde 1977 von Wissenschaftlern als Erreger der Legionellose (Legionellen-Pneumonie oder Legionärskrankheit) identifiziert.¹ Die Familie der Legionellaceae umfasst gegenwärtig mehr als 25 Spezies und 33 Serogruppen, wovon mindestens 18 Spezies mit Pneumonie assoziiert sind; diese sind für etwa 1–5 % aller Pneumoniefälle verantwortlich.² *L. pneumophila* sind pleomorphe, plumpe oder länglich-fusiforme Stäbchenbakterien. Eine Gramfärbung ist nur schwer durchführbar, fällt jedoch negativ aus.

Die Antikörperantwort auf *L. pneumophila* kann spezifisch oder unspezifisch sein, da der Patient möglicherweise Antikörper gegen ähnliche Antigene anderer gram-negativer Bakterien besitzt. Die optimalen Zeitpunkte zur Probenentnahme sind offensichtlich innerhalb der ersten Krankheitswoche oder sobald wie möglich nach Krankheitsbeginn (Akutprobe) und mindestens drei Wochen nach Krankheitsbeginn (Rekonvaleszentenprobe).³ Bei der IFA-Methode gilt ein einzelnes Ergebnis von größer als oder gleich 1:256 als präsumtiver Nachweis für eine Legionellen-Infektion. Berichten zufolge ist bei bis zu 25 % der Patienten kein diagnostischer Titer nachweisbar.⁴ Die Präzision serologischer Verfahren kann jedoch durch die Verwendung mehrerer Legionellen-Spezies^{5,6} als Antigenquelle und eines polyvalenten Konjugats, das gegen IgG, IgM und IgA⁷ gerichtet ist, maximiert werden.

PRINZIP DES TESTS


Das Anti-*L. pneumophila* IgG/IgM/IgA dient zum Nachweis von Antikörpern der Klasse(n)mm IgG/IgA/IgM zum *Legionella* in humanen Sera. Die Probenfelder auf Kunststoffstreifen wurden durch passive Absorption mit *Legionella*-Antigen erstellt. Das Testverfahren umfasst drei Inkubationsschritte:

1. Die (richtig verdünnten) Testsera werden in Antigen-beschichteten Probenfeldern inkubiert. Antigen-spezifische Antikörper in der Probe binden sich an das immobilisierte Antigen. Die Platte wird gewaschen, um ungebundene Antikörper und andere Serumkomponenten zu entfernen.
2. Mit Peroxidase konjugiertes anti-humanes-IgG/IgA/IgM wird in die Felder gegeben und die Platte wird inkubiert. Das Konjugat reagiert mit dem IgG-Antikörper, der in Schritt 1 in solider Phase immobilisiert wurde. Die Felder werden gewaschen, um nicht reagiertes Konjugat zu entfernen.
3. Die Probenfelder mit dem immobilisierten Peroxidase-Konjugat werden mit Peroxidase-Substratlösung inkubiert. Die Hydrolyse des Substrats durch Peroxidase bewirkt eine Farbänderung. Nach einer bestimmten Zeit wird die Reaktion gestoppt und die Farbintensität der Lösung fotometrisch gemessen. Die Farbintensität der Lösung hängt von der Antikörperkonzentration in der ursprünglichen Testprobe ab.

KOMPONENTEN DES TESTSYSTEMS

Gelieferte Materialien

Jedes Testsystem enthält die folgenden Komponenten in ausreichenden Mengen, um die auf der Verpackung angegebene Anzahl von Tests durchzuführen. **HINWEIS:** Folgende Komponenten enthalten <0,1 % (Gtrmm-Vol.-%) Natriumazid als Konservierungsmittel): Kontrollflüssigkeiten, Kalibrierer und Probenverdünner.

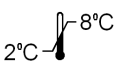
Komponente	Menge 	Beschreibung
PLATE	1	Platte: Jede Platte ist für 96 Bestimmungen vorgesehen. (12x1x8 Probenfelder); Mikrotiterstreifen, die mit einer hitzeinaktivierten Zubereitung aus L. pneumophila-Antigenen (Gruppen 1-6) beschichtet sind. Die Streifen befinden sich in einem Streifenhalter und sind in Umschlägen mit einem Trockenmittel versiegelt.
CONJ	1	Konjugat: Konjugiertes (Meerrettich-Peroxidase) Ziegen-Anti-human-IgG/IgM/IgA. 15 ml-Fläschchen mit weißem Deckel. Gebrauchsfertig.
CTRL +	1	Positiv-Kontrollflüssigkeit (humanes Serum): 0,35 ml-Fläschchen mit rotem Deckel. 21X Konzentrat.
CAL	1	Kalibrierer (humanes Serum): 0,5 ml-Fläschchen mit blauem Deckel. 21X Konzentrat.
CTRL -	1	Negativ-Kontrollflüssigkeit (humanes Serum): 0,35 ml-Fläschchen mit grünem Deckel. 21X Konzentrat.
DIL SPE	1	SAVe Diluent® (Probenverdünner): 30 ml-Flasche (grüner Deckel) mit Tween-20, bovinem Serumalbumin und Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung. Gebrauchsfertig. HINWEIS: Das Verdünnungsmittel ändert in Anwesenheit von Serum seine Farbe.
SOLN TMB	1	TMB: orange 15 ml-Flasche (oranger Deckel) mit 3,3',5,5'- Tetramethylbenzidin. Gebrauchsfertig.
SOLN STOP	1	Stopplösung: 15 ml-Flasche (roter Deckel) mit 1M H2SO4, 0,7M HCl. Gebrauchsfertig.
WASH 10X	1	Waschpufferkonzentrat (10X): 1 Teil Konzentrat mit 9 Teilen deionisiertem oder destilliertem Wasser verdünnen. 100 ml-Flasche (durchsichtiger Deckel) mit einer 10fach-konzentrierten Phosphat-gepufferten Kochsalzlösung und Tween-20 Lösung (blaue Lösung). HINWEIS: Die 1X-Lösung hat einen pH von 7,2 ± 0,2.

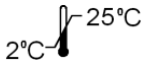
HINWEIS: Die folgenden Komponenten sind nicht Testsystem-Chargennummer-abhängig und können bei jedem ZEUS-ELISA-Test eingesetzt werden: TMB, Stopplösung und Waschpuffer. Der Probenverdünner SAvE Diluent® kann bei jedem ZEUS-ELISA-Test in Verbindung mit der Produktnummer 005CC eingesetzt werden.

BENÖTIGTE ABER NICHT GELIEFERTER MATERIALIEN

- ELISA-Probenfeldleser mit Lesefähigkeit für eine Wellenlänge von 450 nm. **HINWEIS: Es kann ein Lesegerät für eine (450 nm) oder zwei Wellenlängen (450/620-650 nm) verwendet werden. Zwei Wellenlängen werden bevorzugt, da der zusätzliche Referenzfilter potenzielle Interferenzen aufgrund von anomaler Lichtabsorption verringert.**
- Pipetten mit Fähigkeit zu präziser Abgabe von 10 bis 200 µl.
- Multikanal-Pipette mit Fähigkeit zu präziser Abgabe von 50 bis 200 µl.
- Reagenzreservoirs für Multikanal-Pipetten.
- Waschflasche oder Probenfeld-Waschsystem.
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
- Messzylinder, 1 Liter.
- Serologische Pipetten.
- Einweg-Pipettenspitzen.
- Papierhandtücher.
- Labor-Stoppuhr zur Überwachung der Inkubationsschritte.
- Entsorgungsbassin und Desinfizierer. 10 % Haushaltsbleichmittel, 0,5% Natriumhypochlorit.)

AUFBEWAHRUNG

	Beschichtete Probenfeldstreifen: Übrige Streifen sofort wieder mit Trockenmittel versiegeln und zur korrekten Aufbewahrung zurückbringen. Nach Öffnen des Umschlags sind die Streifen bis 60 Tage stabil, wenn der Indikatorstreifen auf dem Trockenmittelbeutel blau bleibt.
---	---

	Konjugat – NICHT EINFRIEREN.
	Ungeöffnetes Testsystem, Kalibrierer, Positiv-Kontrollflüssigkeit und Negativ-Kontrollflüssigkeit, TMB, Probenverdünner
	Stopplösung: 2 – 25°C Waschpuffer (1X) : 20 – 25°C bis zu 7 Tage, 30 Tage zwischen 2 – 8°C. Waschpuffer (10X) : 2 – 25°C

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur zum Gebrauch in *In-vitro*-Diagnosen.
- Bei der Handhabung von Laborreagenzien normale Vorsichtsmassnahmen einhalten. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Dämpfe nicht einatmen. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen und nationalen Gesetze befolgen.
- Die Felder auf der ELISA-Platte enthalten keine lebensfähigen Organismen. Dennoch sollten die Streifen als **potenzielle biologische Gefahrenstoffe** eingestuft und entsprechend behandelt werden.
- Die Kontrollflüssigkeiten sind **potenzielle biologische Gefahrenstoffe**. Die Quellenmaterialien dieser Produkte wurden mit anerkannten Testmethoden negativ auf HIV-1-Antigen, HBsAg. und auf Antikörper gegen HCV und HIV getestet. Keine Testmethode kann jedoch eine komplette Gewähr dafür liefern, dass keine infektiösen Agenten vorhanden sind, und deshalb sind diese Produkte gemäß Biosicherheitsstufe 2 zu behandeln, wie für alle potenziell infektiösen humanen Serum- oder Blutproben in der aktuellen Ausgabe des Handbuchs „Biosafety in Microbiological und Biomedical Laboratories“ der Centers for Disease Control/National Institutes of Health und „Standard for Bloodborne Pathogens“¹³ von OSHA empfohlen.
- Einhalten der angegebenen Inkubationszeit und Temperatur ist entscheidend für akkurate Resultate. **Alle Reagenzien müssen vor dem Test Zimmertemperatur (20–25 °C) annehmen.** Nicht verbrauchte Reagenzien sofort nach Gebrauch wieder auf Kühlschranktemperatur bringen.
- Falsches Waschen kann falsche positive bzw. negative Resultate erzeugen. Sicherstellen, dass Waschmittelreste auf ein Minimum reduziert werden (z.B. durch Trocknen mit Papier oder Aspiration), bevor Konjugat oder Substrat zugefügt wird. Die Felder zwischen Inkubationen nicht austrocknen lassen.
- Das Probenverdünnungsmittel, die Kontrollen, und das Kalibrierer enthalten 0,1% (Gramm-Vol.-%) Natriumazid. Natriumazid bildet Blei- und Kupferazide in Laborabflussrohren, die bei Rohrleitungsschlägen Explosionen verursachen können. Waschbecken nach dem Ausgießen von Natriumazid-haltigen Lösungen gründlich ausspülen, um Explosionen zu verhindern.
- Die Stopplösung ist bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken GIFTIG und kann Verbrennungen verursachen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort ärztlichen Rat einholen.
- Die TMB-Lösung ist SCHÄDLICH. Sie ist ein Irritans für Augen, Atmungssystem und Haut.
- Das Waschpufferkonzentrat ist ein IRRITANS für Augen, Atmungssystem und Haut.
- Die Unterseite der Platte von Flüssigkeitsrückständen und/oder Fingerabdrücken, die die optische Dichteablesung (OD) stören könnten, sauber wischen.
- Verdünnung oder Verpanschung der Reagenzien kann falsche Resultate erzeugen.
- Keine Reagenzien aus anderen Quellen oder von anderen Herstellern verwenden.
- Die TMB-Lösung sollte bei der Anwendung farblos, sehr hell gelb, sehr hell grün oder sehr hell blau sein. Eine Kontamination der TMB mit Konjugat oder anderen Oxidanzien führt zu einer vorzeitigen Farbänderung der Lösung. Die TMB-Lösung nicht verwenden, wenn sie merklich blau ist.
- Niemals mit dem Mund pipettieren. Kontakt von Reagenzien und Patientenproben mit der Haut oder Schleimhäuten vermeiden.
- Mikrobielle Kontamination von Reagenzien vermeiden. Inkorrekte Resultate sind möglich.
- Querkontamination von Reagenzien und/oder Proben kann fehlerhafte Ergebnisse erzeugen
- Wiederverwendbare Glasbehälter müssen gewaschen und gründlich von allen Detergenzien frei gespült werden.
- Spritzen oder Erzeugung von Aerosolen vermeiden.
- Reagenzien in der Aufbewahrung oder bei der Inkubation keinem starken Licht aussetzen.
- Die Probenfelderstreifen und den Halter auf Zimmertemperatur kommen lassen, bevor der Schutzumschlag geöffnet wird, um die Felder vor Kondensation zu schützen.
- Die Waschlösung in einem Entsorgungsbassin sammeln. Die verbrauchte Lösung mit einem Desinfizierer (z. B. 10-prozentiger Haushaltsbleiche – 0,5% Natriumhypochlorit) behandeln. Reagenzien keinen Bleichdämpfen aussetzen.
- Vorsicht: Flüssigkeitsabfälle mit saurem pH vor Zufügen in die Bleichlösung neutralisieren.
- Die ELISA Platte nicht verwenden, wenn der Indikatorstreifen auf dem Trockenmittelbeutel nicht blau, sondern rosa ist.

25. Konjugat nicht mit Behältern oder Instrumenten in Kontakt kommen lassen, die vorher eine Lösung mit Natriumazid als Konservierungsmittel enthalten haben könnten. Rückstände von Natriumazid können die Enzymaktivität des Konjugats unterbinden.
26. Die reaktiven Reagenzien keinen Lösungen mit Bleichmittel oder starken Gerüchen von Lösungen mit Bleichmittel aussetzen. Spuren von Bleichmittel (Natriumhypochlorit) können die biologische Aktivität vieler reaktiver Reagenzien in diesem Testsystem unterbinden.

PROBENAHRME

1. Es wird von ZEUS Scientific empfohlen, dass die Probenahme durch den Benutzer in Übereinstimmung mit dem aktuellen NCCLS-Dokument M29: Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease erfolgt.
2. Keine Testmethode kann eine komplette Gewähr dafür liefern, dass humane Blutproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate als potenziell infektiös behandelt werden.
3. Für diesen Test nur frisch entnommene und richtig gekühlte Sera verwenden, die mit zugelassenen aseptischen Venenpunkturnverfahren gewonnen wurden.^{8, 9} Nicht verwenden, wenn Antikoagulanzen oder Konservierungsmittel zugefügt sind. Hämolytierte, lipemische oder bakteriell kontaminierte Sera vermeiden.
4. Proben nicht länger als 8 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahren. Erfolgt der Test nicht innerhalb von 8 Stunden, können Sera zwischen 2 °C und 8°C bis zu 48 Stunden aufbewahrt werden. Wird eine noch längere Testverzögerung vorausgesehen, Testsera bei -20 °C oder darunter aufbewahren. Nicht mehrmals einfrieren/auftauen, weil dies zu einem Verlust der Antikörperaktivität und damit fehlerhaften Resultaten führen könnte. Es ist die Verantwortung der einzelnen Labors, alle verfügbare Literatur und/oder eigenen Studien zu Bestimmung der Stabilitätskriterien für das eigene Labor zu verwenden (14).

ASSAY-VERFAHREN

1. Die verschiedenen Komponenten aus der Aufbewahrung holen und auf Zimmertemperatur (20–25 °C) erwärmen lassen.
2. Die benötigte Anzahl Probenfelder feststellen. Sechs Kontrollflüssigkeit/Kalibrierer-Festlegungen pro Test (eine Leerwertprobe, eine Negativ-Kontrollflüssigkeit, drei Kalibrierer und eine Positiv-Kontrollflüssigkeit) einplanen. Bei jedem Test eine Leerwertprobe testen. Software- und Leseranforderungen für die korrekte Kontrollflüssigkeit/Kalibrierer-Konfiguration prüfen. Nicht verwendete Streifen in den wiederverschließbaren Beutel mit Trockenmittel legen, versiegeln und zur Aufbewahrung zwischen 2 °C und 8 °C zurückbringen.

BEISPIEL PLATTENEINSTELLUNG		
	1	2
A	Leerwertprobe	Patient 3
B	Negativ-Kontrollflüssigkeit	Patient 4
C	Kalibrierer	usw.
D	Kalibrierer	
E	Kalibrierer	
F	Positiv-Kontrollflüssigkeit	
G	Patient 1	
H	Patient 2	

3. Eine 1:21 Verdünnung (z.B. 10 µl Serum + 200 µl Probenverdünner) von Negativ-Kontrollflüssigkeit, Kalibrierer, Positiv-Kontrollflüssigkeit und jedem Patientenserum herstellen. **HINWEIS: Zur Bestätigung der Mischung der Probe mit dem Verdünnungsmittel ändert das Probenverdünnungsmittel seine Farbe.**
4. Je 100 µL der verdünnten Kontrollflüssigkeiten, Kalibrierer und Patientenproben in Felder geben. Proben gut durchmischen. Für jede Probe einen neue Pipettenspitze verwenden.
5. 100 µl Probenverdünner als Leerwertprobe in Feld A1 geben. Software- und Leseranforderungen für die korrekte Felderkonfiguration für die Leerwertprobe prüfen.
6. Platte bei Zimmertemperatur (20–25°C) 25 ± 5 Minuten lang inkubieren.
7. Die Probenfelderstreifen 5 Mal waschen.
 - a. **Waschen von Hand:**
 1. Die Flüssigkeit kräftig aus den Feldern herausschütteln.
 2. Jedes Probenfeld mit Waschpuffer füllen. Sicherstellen, dass die Felder keine Luftbläschen enthalten.
 3. Schritte 1. und 2. für insgesamt 5 Wäschen wiederholen.

- Die Waschlösung aus den Feldern herausschütteln. Die Platte auf ein Papierhandtuch legen und kräftig klopfen, um alle Waschlösungsreste aus den Feldern zu entfernen. Die Platte visuell auf evtl. verbleibende Waschlösung inspizieren. Waschlösung in einem Einweg-Bassin sammeln und am Ende der täglichen Tests mit Desinfizierer behandeln.

b. Automatisches Waschen:

Bei Verwendung einer automatischen Probenfeld-Waschvorrichtung das Abgabevolumen auf 300–350 µl/Feld einstellen. Den Waschzyklus auf 5 Wäschen ohne Pause zwischen den Wäschen stellen. Falls nötig, die Probenfelderplatte aus dem Wäscher entnehmen, auf ein Papierhandtuch legen und kräftig klopfen, um alle Waschlösungsreste aus den Feldern zu entfernen.

- 100 µl Konjugat mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei den Proben in jedes Feld geben, einschließlich in das Feld mit Leerwertprobe.
- Platte bei Zimmertemperatur (20–25°C) 25 ± 5 Minuten lang inkubieren.
- Probenfelder wie in Schritt 7 beschrieben waschen.
- 100 µl TM-Lösung mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei den Proben in jedes Feld geben, einschließlich in das Feld mit Leerwertprobe.
- Platte bei Zimmertemperatur (20–25°C) 10 ± 15 Minuten lang inkubieren.
- Reaktion durch Zufügen von 50 µl Stopplösung mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei TMB in jedes Feld stoppen, einschließlich in dem Feld mit Leerwertprobe. Positive Proben ändern ihre Farbe von blau zu gelb. Nach Zufügen der Stopplösung mehrmals an die Platte klopfen, um sicherzustellen, dass sich die Proben gut durchmischen.
- Den Probenfeldleser auf eine Wellenlänge von 450 nm stellen und die optische Dichte (OD) jedes Feldes gegen die Leerwertprobe messen. Die Platte innerhalb von 30 Minuten nach Zufügen der Stopplösung lesen.

TESTVERFAHREN IN KURZFORM

- Serum 1:21 verdünnen.
- Verdünntes Serum in Probenfelder geben – 100µL/Feld
- 25 bis 5 Minuten inkubieren.
- Waschen.
- Konjugat zufügen – 100µL/Feld.
- 25 bis 5 Minuten inkubieren.
- Waschen.
- TMB zufügen – 100µL/Feld.
- 10 bis 15 Minuten inkubieren.
- Stopplösung zufügen – 50µL/Feld
- Innerhalb von 30 Minuten ABLESEN.

QUALITÄTSSICHERUNG

- Bei jeder Prozedur muss der Kalibrierer dreifach angewendet werden. Eine Leerwertprobe, eine Negativ-Kontrollflüssigkeit und eine Positiv-Kontrollflüssigkeit sind ebenfalls einzubeziehen.
- Den Mittelwert der drei Kalibrierfelder berechnen. Weicht einer dieser drei Werte um mehr als 15 % vom Mittelwert ab, diesen Wert verwerfen und den Mittelwert der anderen beiden Felder berechnen.
- Der OD-Mittelwert für den Kalibrierer, für die Positiv- und Negativ-Kontrollflüssigkeiten sollten in die folgenden Bereiche fallen:

OD-Bereiche

Negativ-Kontrollflüssigkeit ≤0,250
Kalibrierer ≥0,300
Positiv-Kontrollflüssigkeit ≥0,500

- Die OD der Negativ-Kontrollflüssigkeit dividiert durch die mittlere OD des Kalibrierers sollte ≤ 0,9 ergeben.
 - Die OD der Positiv-Kontrollflüssigkeit dividiert durch die mittlere OD des Kalibrierers sollte ≥ 1,25 ergeben.
 - Werden diese Bedingungen nicht eingehalten, muss der Test als ungültig gelten und wiederholt werden.
- Die Positiv-Kontrollflüssigkeit und Negativ-Kontrollflüssigkeit dienen nur zur Überwachung eines erheblichen Reagenzversagens und garantieren keine Präzision am Test-Grenzwert.
 - Zusätzliche Kontrollflüssigkeiten können in Übereinstimmung mit Richtlinien oder Vorschriften von örtlichen oder staatlichen Stellen oder anerkannten Organisationen verwendet werden.
 - Siehe NCCLS Dokument C24: Statistical Quality Control for Quantitative Measurements Procedures für Hinweise zu sachgemäßen Maßnahmen zur Qualitätssicherung.

INTERPRETATION DER RESULTATE

1. **Calculations:**

2. **Berechnungen:**

- a. **Korrekturfaktor:** Ein Grenzwert für den OD-Wert von positiven Proben wurde vom Hersteller festgelegt und mit dem Kalibrierer korreliert. Der Korrekturfaktor (CF) ermöglicht die Festlegung des Grenzwerts für positive Proben unter Berücksichtigung von leichten Abweichungen der Testresultate von Tag zu Tag. Der Korrekturfaktor wird für jede Charge von Komponenten festgelegt und ist auf das Datenetikett in der Testsystem-Box aufgedruckt.
- b. **OD-Grenzwert:** Um den OD-Grenzwert zu erhalten, den CF mit dem oben berechneten mittleren OD-Wert des Kalibrierers multiplizieren.
($CF \times OD\text{-Mittel Kalibrierer} = OD\text{-Grenzwert}$)
- c. **Indexwerte oder OD-Raten:** Den Indexwert bzw. die OD-Rate für jede Probe durch Teilung ihres OD-Werts durch den OD-Grenzwert aus Schritt b berechnen.

Beispiel	OD-Mittel	=	0,793
	Kalibrierer		
	Korrekturfaktor	=	0,25
	(CF)		
	OD-Grenzwert	=	$0,793 \times 0,25 = 0,198$
	Unbekannte	=	0,432
	Proben-OD		
	Indexwert oder	=	$0,432/0,198 = 2,18$
	OD-Rate		

2. **Auswertung:** Indexwerte bzw. OD-Raten werden wie folgt interpretiert

	<u>Indexwerte oder OD-Raten</u>
Negative Proben	$\leq 0,90$
Unbestimmte Proben	0,91 bis 1,09
Positive Proben	$\geq 1,10$

- a. Eine OD-Ratio von $\leq 0,90$ bedeutet, dass keine nachweisbaren Antikörper (IgG/IgM/IgA) gegen *L. Pneumophila* vorhanden sind. Ein negatives Ergebnis entspricht etwa einem IFA-Titer von weniger als 1:256. Ein negatives Ergebnis schließt eine Legionellen-Infektion nicht aus.
- b. Eine OD-Ratio von $\geq 1,10$ bedeutet, dass Antikörper (IgG/IgM/IgA) gegen *L. Pneumophila* nachgewiesen wurden und der Patient zu irgendeinem Zeitpunkt eine Legionellen-Infektion durchgemacht hat. Dieses Ergebnis entspricht etwa einem IFA-Titer von größer als oder gleich 1:256. Zur Diagnosestellung sind ggf. andere Labortests oder weitere klinische Daten erforderlich.
- c. Proben mit Ratio-Werten im fragwürdigen Bereich (0,91–1,09) sollten erneut in doppelter Ausführung getestet werden. Das am häufigsten auftretende Ergebnis (zwei von drei) sollte ausgegeben werden. Proben, die wiederholt grenzwertig sind, sollten anhand einer alternativen Methode wie einem IFA getestet werden oder anhand einer weiteren Probennahme 2–3 Wochen später erneut evaluiert werden.

HINWEIS: Die Größenordnung des gemessenen Ergebnisses über dem Grenzwert ist kein Anhalt für die Gesamtkonzentration der Antikörper und kann nicht mit IFA-Titern korreliert werden.

GRENZEN DES VERFAHRENS

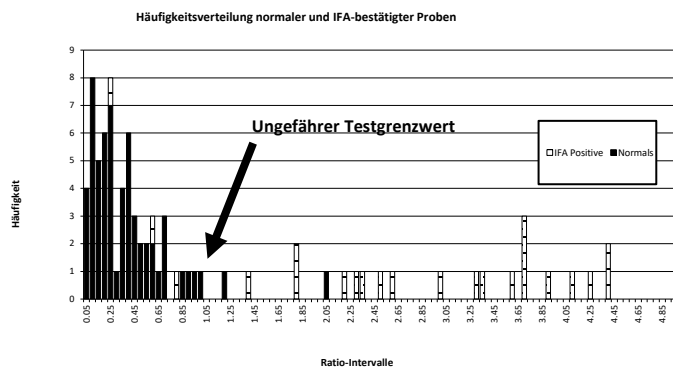
1. Eine Diagnose sollte nicht alleine auf der Basis der Anti-Legionella-Testergebnisse gestellt werden. Die Anti-Legionella-Testergebnisse sollten von Ärzten im Zusammenhang mit der klinischen Beurteilung und den Ergebnissen von anderen diagnostischen Verfahren interpretiert werden.
2. Ein positives Ergebnis deutet auf eine Infektion mit einer oder mehreren Spezies der Gruppen 1-6 hin; die Ergebnisse dieses ELISA-Tests alleine sind jedoch nicht zur Differenzierung der einzelnen Spezies geeignet.
3. Hämolytische, lipämische, bakteriell kontaminierte oder hitzeinaktivierte Proben vermeiden. Dadurch können falsche Ergebnisse erzielt werden.
4. Bei Seren mit Infektionen durch andere Legionellen-Spezies können Kreuzreaktionen auftreten.
5. Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Legionellen-Infektion nicht aus. Serumproben, die zu früh im Verlauf der Infektion entnommen wurden, enthalten u.U. noch keine nachweisbaren Antikörpertiter. Einige kulturpositive Fälle bilden keine Antikörper gegen Legionellen.¹²
6. Positive Ergebnisse können durch Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen andere Organismen erzielt werden. Serologische Kreuzreaktionen wurden mit *P. aeruginosa*, mehreren *Rickettsia*-Spezies, *Coxiella burnetii*, enterischen, gramnegativen Stäbchenbakterien, *Bacteroides*-Spezies, *Haemophilus*-Spezies, *Citrobacter freundii* und *Campylobacter jejuni* berichtet.¹⁰ Ein positives Ergebnis alleine, deutet daher nicht unbedingt auf eine Legionellen-Infektion hin. Außerdem geht aus einigen Berichten¹¹

hervor, dass offensichtlich gesunde Personen Antikörper gegen Legionellen besitzen können; ein positives Ergebnis in Verbindung mit klinischen Zeichen und Symptomen deutet jedoch auf eine potenzielle Legionellen-Infektion hin. Zur Diagnosestellung sind ggf. weitere serologische Tests wie eine IFA-Analyse von Serumpaaren oder andere klinische Tests wie ein direkter Fluoreszenztest und eine Kultivierung erforderlich.

7. Die Leistungscharakteristika des Tests wurden bisher nur für Serumproben beurteilt.
8. Die Affinität und/oder Avidität des Anti-IgG/IgM/IgA-Konjugats wurde noch nicht bestimmt.
9. Obgleich das Konjugat zum Nachweis von Human-IgG, -IgM, und/oder -IgA vorgesehen ist, kann mit diesem Test nicht bestimmt werden, welche Antikörperklasse vorliegt.
10. Eine frühzeitige Antibiotikatherapie kann die Antikörperantwort unterdrücken und bei manchen Patienten liegt die Konzentration der gebildeten Antikörper u.U. unterhalb der Nachweisgrenze.
11. Ein einzelnes positives Ergebnis deutet lediglich auf eine zurückliegende Exposition hin. Eine aktive Infektion kann nicht am Ausmaß der Antikörperantwort ermittelt werden.
12. Die Verwendung der Serogruppen 1 - 6 zur Beurteilung von Antikörperantworten auf verschiedene Legionellen-Spezies und Serogruppen wurde noch nicht belegt. Einige infizierte Patienten besitzen u.U. Antikörperkonzentrationen, die unterhalb der Nachweisgrenze dieses Tests liegen. Eine Antikörperantwort kann möglicherweise erst nach vier bis sechs Wochen nachgewiesen werden und die Antikörperkonzentration kann innerhalb eines Monats auf eine nicht mehr nachweisbare Höhe absinken.

REFERENZWERTE

Eine Wissenschaftler erzielten mit Formalin-fixierten Antigenzubereitungen erhöhte Antikörpertiter bei 1 bis 3 % von Gesunden.¹¹ Bei einer internen Beurteilung von sechzig Seren gesunder Spender war eine Probe fragwürdig (1,7 %), zwei Proben waren positiv (3,3 %) und die restlichen Proben (57/60 oder 95 %) waren negativ. Im Folgenden wird eine Häufigkeitsverteilung der Ergebnisse einer Gruppe von 60 normalen und 24 IFA-bestätigten Proben dargestellt.



LEISTUNGSSCHARAKTERISTIKA

1. Vergleichsstudien

Zum Nachweis der Gleichwertigkeit des Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA mit einem anderen kommerziellen ELISA-Testsystem und einem Legionella-IFA-Testsystem wurde eine Vergleichsstudie durchgeführt. Die Leistung des Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA wurde an drei klinischen Prüfzentren beurteilt. An einem Prüfzentrum wurde das Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA mit einem anderen kommerziellen ELISA-Testsystem verglichen. An einem zweiten Prüfzentrum wurde das Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA mit dem ZEUS IFA-Legionella-Testsystem verglichen. An einem dritten Prüfzentrum wurde das Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA mit einem kommerziellen IFA-Legionella-Testsystem verglichen. Insgesamt wurden 240 Proben getestet. Die am ersten und zweiten Prüfzentrum getesteten Proben bestanden vorwiegend aus Routineproben eines Referenzlabors im Nordosten der Vereinigten Staaten, das normale Legionellen-Serologietest durchführt. Außerdem wurden einige Depotproben eingeschlossen, die bereits getestet und als positiv für Antikörper gegen Legionellen befunden worden waren. Die am dritten Prüfzentrum getesteten Proben bestanden aus 22 Serumpaaren (Akut- und Rekonvaleszentenseren) von bestätigten Legionellen-Infektionsfällen. Eine Zusammenfassung dieser Prüfungen ist in Tabellen 1 und 2 aufgeführt. Fragwürdige Proben wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

Tabelle 1: Berechnungen der relativen Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung; Prüfzentrum 1

	Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA			Gesamt
	Positiv	Negativ	Fragwürdig	

Kommerzielles ELISA-Testsystem	Positiv	12	1	2	15
	Negativ	5	67	10	82
	Fragwürdig	11	0	1	12
	Gesamt	28	68	13	109

Relative Sensitivität = $12/13 = 92,3\%$, (95% Vertrauensintervall = 77,8 bis 100%)

Relative Spezifität = $67/72 = 93,1\%$, (95% Vertrauensintervall = 87,2 bis 98,9%)

Relative Übereinstimmung = $79/85 = 92,9\%$, (95% Vertrauensintervall = 85,7 bis 98,4%)

*Die 95%igen Vertrauensintervalle wurden anhand der exakten Methode berechnet.

Tabelle 2: Berechnungen der relativen Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung; Prüfzentrum 2

		Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA			
		Negativ	Fragwürdig	Positiv	Gesamt
ZEUS IFA Legionella-Testsystem	< 1:128	56	2	7	65
	1:128	0	1	4	5
	≥ 1:256	1	0	16	17
	Gesamt	57	3	27	87

Relative Sensitivität = $16/17 = 94,1\%$, (95% Vertrauensintervall = 82,9 bis 100%)

Relative Spezifität = $56/63 = 88,9\%$, (95% Vertrauensintervall = 81,1 bis 96,6%)

Relative Übereinstimmung = $72/80 = 90,0\%$, (95% Vertrauensintervall = 83,4 bis 96,6%)

*Die 95%igen Vertrauensintervalle wurden anhand der exakten Methode berechnet.

Tabelle 3: Berechnungen der relativen Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung; Prüfzentrum 3 (Individuelle Ergebnisse von Akut- und Rekonvaleszentenproben)

		Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA			
		Negativ	Fragwürdig	Positiv	Gesamt
Kommerzielles ZEUS IFA-Legionella-Testsystem	< 1:128	16	0	1	17
	1:128	3	1	1	5
	≥ 1:256	3	0	19	22
	Gesamt	22	1	21	44

Relative Sensitivität = $19/22 = 86,4\%$, (95% Vertrauensintervall = 72 bis 100%)

Relative Spezifität = $16/17 = 94,1\%$, (95% Vertrauensintervall = 89,2 bis 100%)

Relative Übereinstimmung = $35/39 = 89,7\%$, (95% Vertrauensintervall = 80,2 bis 99,2%)

*Die 95%igen Vertrauensintervalle wurden anhand der exakten Methode berechnet.

Bezüglich Tabelle 3 oben: von den 22 Serumpaaren (Akut- und Rekonvaleszentenproben) war bei 17 Proben das Akutserum negativ und das Rekonvaleszentenserum positiv im ELISA. Von den restlichen fünf Probenpaaren war bei 3 Probenpaaren sowohl das Akutserum als auch das Rekonvaleszentenserum negativ und bei 2 Probenpaaren sowohl das Akutserum als auch das Rekonvaleszentenserum positiv. **HINWEIS:** Die Bezeichnung „relativ“ bezieht sich auf den Vergleich der Ergebnisse dieses Tests mit den Ergebnissen ähnlicher Tests. Es wurde kein Versuch unternommen, die Testergebnisse mit dem Vorliegen oder Fehlen einer Erkrankung zu korrelieren.

2. Präzision und Reproduzierbarkeit:

Zum Nachweis der Reproduzierbarkeit der Testergebnisse von Labor zu Labor wurden sechs Proben getestet: zwei mit einem IFA-Titer von < 1:128, zwei mit einem IFA-Titer von 1:512 und zwei mit einem IFA-Titer von ≥ 1:1024. Von jeder Probe wurden fünf Fläschchen zubereitet, so dass insgesamt 30 Fläschchen getestet wurden. Die 30 Fläschchen wurden randomisiert und von 1 bis 30 nummeriert. Das Panel wurde intern und an zwei klinischen Prüfzentren getestet. Die Studie ergab mit einer 100%igen Übereinstimmung zwischen allen drei Prüfstellen eine ausgezeichnete Reproduzierbarkeit von Labor zu Labor. Die Beurteilung der Präzision erfolgte gemäß Dokument EP5-T2: *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices – Second Edition*, herausgegeben vom National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Reproduzierbarkeitsstudien wurden an beiden klinischen Prüfzentren mit den gleichen acht Proben durchgeführt: zwei relativ stark positive Proben, zwei Proben nahe am Grenzwert, zwei eindeutig negative Proben, sowie die Positiv- und Negativ-Kontrollflüssigkeiten des Kits. An jedem Testtag wurde jede der acht Proben zweifach getestet. Der Test wurde an jedem Testtag einmal morgens und einmal nachmittags durchgeführt, so dass jede Probe täglich in vierfacher Ausführung getestet wurde. Diese Reproduzierbarkeitsstudie wurde 20 Tage lang durchgeführt und erzielte insgesamt 80 Testergebnisse für jede der acht Proben. Eine Zusammenfassung dieser Studie ist nachstehend in Tabelle 4 gegeben:

Tabelle 4: Zusammenfassung der Präzisionstests an Prüfzentren 1 und 2

Test	Prüfz .	Mittlere Ratio	Ergebnis	SWR*	ST**	Tage	Gesamtzahl der Tests	Gesamt % VK
L-1	1	2,264	Positiv	0,204	0,249	19	76	10,99
	2	2,517		0,138	0,438	19	76	17,42
L-2	1	2,277	Positiv	0,101	0,209	18	72	9,20
	2	2,435		0,123	0,357	20	80	14,67
L-3	1	0,479	Negativ	0,024	0,040	18	72	8,45
	2	0,245		0,023	0,049	20	80	19,91
L-4	1	0,281	Negativ	0,013	0,032	19	76	11,24
	2	0,077		0,020	0,027	20	80	35,33
L-5	1	1,055	Nahe am Grenzwert	0,081	0,199	19	76	11,32
	2	0,757		0,049	0,091	20	80	12,07
L-6	1	0,845	Nahe am Grenzwert	0,033	0,079	19	76	9,36
	2	0,606		0,060	0,095	20	80	15,72
Positiv- Kontrollflüssigk eit	1	6,414	Positiv	0,114	0,297	20	80	4,64
Negativ- Kontrollflüssigk eit	1	0,270	Negativ	0,019	0,033	20	80	12,14

*Punktschätzung der Standardabweichung bei der Genauigkeit innerhalb des Testlaufs

**Punktschätzung der Standardabweichung bei der Gesamtgenauigkeit











HINWEIS: Die Reproduzierbarkeitsergebnisse in Tabelle 4 stehen nur als Beispiel für die Ergebnisse, die bei der klinischen Studie unter idealen Umgebungs-, Geräte- und Methodenbedingungen erzielt wurden. Die Reproduzierbarkeit sollte an jedem Labor beurteilt werden und kann in Abhängigkeit von den Laborbedingungen variieren.

LITERATUR

1. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR, and the Laboratory Investigation Team: Legionnaires' disease. Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. N. Engl. J. Med. 297:1197-1203, 1977.
 2. Tilton RC, Balows A, Hohnadel DC, and Reiss RF, Editors: Lower respiratory tract specimens. IN: Clinical Laboratory Medicine, Mosby Year Book, Inc., St. Louis, MO. pp 591-603, 1992.
 3. Wilkinson HW: Manual of Clinical Immunology - Second Edition: Immune Response to *Legionella pneumophila*. Rose NR, Friedman H, editors. pp 500-503 (1980). Published by Am. Society for Microbiology, Washington, DC.
 4. Harrison TG, Taylor AG: Timing of seroconversion in legionnaires' Disease. Lancet (2):795, 1988.
 5. Wilkinson HW, Reingold AL, Brake BJ, McGiboney DL, Gorman GW, Broome CV: Reactivity of serum from patients with suspected Legionellosis against 29 antigens of legionellaceae and Legionella-like organisms by indirect immunofluorescent assay. J. Infect. Dis. 147:23-31, 1983.
 6. McIntyre M, Kurtz JB, Selkon JB: Prevalence of antibodies to 15 antigens of legionellaceae in patients with community-acquired pneumonia. Epidemiol. Infect. 104:39-45, 1990.
 7. Wilkinson HW, Farshy CE, Fikes BJ, Cruce DD, Yealy LP: Measure of immunoglobulin G-, M-, and A-specific titers against *L. pneumophila* and inhibition of titers against non-specific, gram negative bacterial antigens in the indirect immunofluorescent test for legionellosis. J. Clin. Microbiol. 10: 685-689, 1979.
 8. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture - Second Edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
 9. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
 10. Edelstein P: Laboratory Diagnosis of Legionnaires Disease; an Update from 1984, pp 7-11. In: Legionella, Current Status and Emerging Perspectives. Barbaree J, *et al*, editors. Published by American Society for Microbiology, 1993.
 11. Paszko-Kolva C, Shahamat M, Keiser J, and Colwell R: Prevalence of Antibodies Against Legionella Species in Healthy and Patient Populations, pp 24-26. In: Legionella, Current Status and Emerging Perspectives. Barbaree J, *et al*, editors. Published by American Society for Microbiology, 1993.
 12. Bangsborg J, *et al*: The *E. coli* Immunosorbent as used in serodiagnosis of legionella infections studied by crossed immunoelectrophoresis. A PMIL 96:177-184, 1988.
 13. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
- Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines - 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.

GLOSSAR DER SYMBOLE

Bei der Kennzeichnung dieses Produkts wurden möglicherweise die folgenden Symbole verwendet.

Symbol	Description	Symbol	Description
	Hersteller		Von Sonnenlicht fernhalten
IVD	In-vitro-Diagnostika	PLATE	Platte
REF	Katalognummer	CONJ	Konjugieren
	Ausreichend für n Tests	CTRL +	Positivkontrolle
LOT	Chargencode	CTRL -	Negativkontrolle
	Verwendung durch	CAL	Kalibrierer
	Einschränkungen der Lagertemperatur	DIL SPE	Probenverdünnungsmittel
CONT	Inhalt	SOLN TMB	TMB
UDI	Eindeutige Geräteidentifikationsnummer	SOLN STOP	Stopplösung
	Beachten Sie die Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	WASH 10X	Waschpufferkonzentrat (10X)
	Elektronische Gebrauchsanweisung konsultieren	DE	Deutsch
	In aufrechter Position aufbewahren	Made in the USA	Hergestellt in den USA
RX Only	Applicable for U.S.A: Nur für verschreibungspflichtige Zwecke		Ätzend
	Gefahrenkommunikation	EC REP	Bevollmächtigter Vertreter der Europäischen Kommission
CE	Übereinstimmung mit der Richtlinie 98/79		



ZEUS Scientific

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA
Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2
International: +1 908-526-3744
Fax: +1 908-526-2058
Website: www.zeusscientific.com

EC REP

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Für Kundenservice in den USA wenden Sie sich bitte an Ihren lokalen Vertriebspartner. Für technischen Support in den USA kontaktieren Sie ZEUS Scientific telefonisch über die gebührenfreie Hotline oder per E-Mail an support@zeusscientific.com.

Für Kundenservice- und technische Supportanfragen außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihre lokale Sebia-Niederlassung oder Ihren autorisierten Vertriebspartner.

©2025 ZEUS Scientific. Alle Rechte vorbehalten.