

Zur *in Vitro* Diagnostik

Einleitung

Chlamydia ist ein Energie-parasitäres Bakterium mit einem Genom von 660×10^6 Dalton (1-5). Die Gattung Chlamydia umfaßt drei Arten: **Chlamydia trachomatis**, **Chlamydia pneumoniae** (TWAR) **Chlamydia psittaci** (6, 7).

Alle **Chlamydia**-Arten haben als gemeinsames, gattungsspezifisches Antigen ein Glycolipid (8).

Chlamydia trachomatis-Unterarten teilen spezie- und typspezifische Antigene in unterschiedlichem Ausmaß. Vier der 15 Serotypen (A, B, Ba und C) rufen das endemische Trachom hervor; acht Serotypen (D bis K) sind verantwortlich für sexuell übertragbare **Chlamydia**-Infektionen und drei Serotypen (L₁, L₂ und L₃) für das Lymphogranuloma venereum (LGV) (9). Heute gilt

Chlamydia trachomatis (Serotypen D bis K) als Hauptursache für sexuell übertragbare Infektionen wie nichtgonorrhöische Urethritis (NGU), postgonorrhöische Urethritis (PGU), Epididymitis, Zervizitis, Endometritis, Salpingitis, Perihepatitis, Peritonitis, Reiter's Syndrom, Konjunktivitis und Pneumonie (Übersicht von Ladany und Sarov (10)).

Chlamydia psittaci verursacht die Psittakose (Ornithose), **Chlamydia pneumoniae** (TWAR) löst ebenfalls atypische Pneumonien aus.

Der Nachweis spezifischer Serum-IgM-Antikörper gilt als der diagnostische Parameter für akute virale und bakterielle Infekte (11).

Der Nachweis spezifischer Serum-IgM-Antikörper gegen **C. trachomatis**, **C. psittaci** und **C. pneumoniae** (TWAR) hat bei atypischen Pneumonien diagnostische Signifikanz (12). Der IgM-Titerverlauf einer Chlamydien-Pneumonie sieht wie folgt aus:

Die Antikörper erscheinen im frühen Infektionsstadium, erreichen nach 1-2 Wochen ihren Höhepunkt und fallen langsam innerhalb von 2-3 Monaten auf nicht mehr nachweisbare Stufen ab (13). Dieser Titerverlauf wurde bei 20-50% Neugeborener, die innerhalb der ersten 6 Monate eine Chlamydien-Pneumonie entwickelten (14, 15), beobachtet; ihre Mütter waren **C. trachomatis**-kulturpositiv und/oder hatten erhöhte Titer spezifischer IgG- und IgA-Serumantikörper gegen Chlamydien.

Respiratorische **C. pneumoniae**-Infekte sind durch 2 Phasen charakterisiert: Akut-Phase 1 ist gekennzeichnet durch frühes Auftreten von IgM-Antikörpern bei langsamer Entwicklung der IgG-Immunantwort. In Phase 2 erfolgt die schnelle Bildung von IgA- und IgG-Antikörpern, wobei IgM nicht mehr nachweisbar ist (16, 17).

Einige Untersuchungen weisen darauf hin, daß spezifische Serum-IgM-Antikörper gegen Chlamydien auch in Fällen von nichtgonorrhöischer Urethritis (NGU), postgonorrhöischer Urethritis (PGU), Epididymitis, Zervizitis, Endometritis, Salpingitis, Perihepatitis, Arthritis und einigen respiratorischen Erkrankungen pädiatrischer Patienten gefunden worden waren (18-23).

Dementsprechend werden spezifische IgM-Antikörper gegen Chlamydien als sehr nützliche und sensitive Indikatoren generell akuter Chlamydien-Infektionen angesehen und darüberhinaus als unentbehrliche Indikatoren bei Pneumonien, die durch *C. trachomatis*, *C. psittaci* oder *C. pneumoniae* (TWAR) hervorgerufen sind.

Nicht angezeigt ist ein IgM-Nachweis bei Kindern mit Chlamydien-Einschlußkonjunktivitis (24). Hier sollte man dem IgG-/IgA-Nachweis den Vorzug geben.

Da IgM-Antikörper primär bei akuten Infektionen gebildet werden, allerdings über Wochen persistieren können (13), empfiehlt sich zur Differenzierung akut-perakut-prächronisch die Überprüfung einer IgM-Titerbewegung in Serumpaaren bzw. die zusätzliche Bestimmung von IgA- und IgG-Antikörpern.

Hohe Titer von IgG-Antikörpern, die dieselben antigenen Bindungsstellen wie IgM besetzen können, führen zu falsch negativen IgM-Ergebnissen, hohe Titer von Rheumafaktoren (Rf) führen zu falsch positiven IgM-Ergebnissen (25-27). Daher ist eine Isolierung der

spezifischen IgM-Antikörper gegen Chlamydien vor Testdurchführung notwendig. Der IPAzyme-Chlamydia-IgM-Test beinhaltet alle notwendigen Reagenzien für eine Vorbehandlung der Seren und anschließende genaue, sensitive und spezifische Bestimmung der IgM-Antikörper mit Hilfe des Immunperoxidasetests (IPA). Dieser Test kann in jedem klinischen Labor durchgeführt werden, da das standardisierte IgG/Rf-Fällungsreagenz, die stabilisierten, gebrauchsfertigen Komponenten und die Auswertung mit Hilfe eines einfachen Lichtmikroskops ein zuverlässiges, einfaches und ökonomisches Verfahren gewährleisten.

Bei dem Nachweisverfahren von Chlamydien IgM-Antikörpern mit Hilfe des IPAzyme-Chlamydia-IgM-Tests handelt es sich um eine gattungsspezifische Reaktion. Somit gibt das Testergebnis als solches keinen Aufschluß darüber, um welche Chlamydienart es sich bei dem betreffenden Patienten handelt. Da aber die klinische Symptomatik bereits festlegt, mit welcher Art überhaupt zu rechnen ist, und zudem Chlamydienarten gleiche Antibiotikaempfindlichkeit aufweisen, schränkt die gattungsspezifische Reaktivität die Aussage nicht ein.

Da weiterhin angeraten wird, grundsätzlich, sofern möglich, auch den direkten Erregernachweis zu führen, kann mit Hilfe dieser Methodik eine Differentialdiagnostik betrieben werden.

Testvorteile

- Patientenfreundliche Probennahme
- Keine besondere Serumaufbereitung
- Einfache Handhabung
- Kurze Testdauer
- Lichtmikroskopische Auswertung
- Positive/Negative Kontrollen deutlich unterscheidbar
- Ergebnisse klar und über längeren Zeitraum ablesbar
- Gute Reproduzierbarkeit
- Für Verlaufskontrollen geeignet.

Testprinzip

Im ersten Schritt wird das zu testende Humanserum mit einem Reagenz vorbehandelt, das IgG und IgG/Rf-Komplexe ausfällt. Damit ist ein Nachweis von spezifischen IgM-Antikörpern, falls vorhanden, mit Hilfe der nachfolgenden Schritte gewährleistet. Im zweiten Schritt wird das vorbehandelte Humanserum mit dem Antigenmaterial (*Chlamydia trachomatis*-L₂-infizierte Zellen) in Kontakt gebracht. Anti-Chlamydien-IgM, sofern im Serum vorhanden, wird durch Anlagerung an das Antigen einen Antigen-Antikörper-Komplex bilden. Wenn das zu testende Serum keine Antikörper für dieses spezifische Antigen enthält, wird kein Komplex gebildet und alle Serumkomponenten werden in einem Waschvorgang entfernt. Im dritten Schritt erfolgt die Zugabe von einem Meerrettich-Peroxidase (HRPO)-Konjugat mit anti-human IgM (μ -Ketten spezifisch) zu dem Ansatz. Wurde im zweiten Schritt ein Antigen-Antikörper-Komplex gebildet, wird der Peroxidase-konjugierte Antikörper im dritten Schritt an den Antikörperanteil des Komplexes binden. Im vierten Schritt folgt die enzymatische Reaktion des Peroxidaseanteils mit dem Wasserstoffperoxid/Chromogen-Reagenz.

Eine positive Reaktion in Form eines blauen Präzipitats in den infizierten Zellen kann mit Hilfe eines einfachen Lichtmikroskops abgelesen werden.

Übersicht über die Schritte

1. Humanserum + IgG/Rf-Fällungsreagenz
↓
IgG/Rf-adsorbiertes Serum mit spezifischen anti-Chlamydien-IgM-Antikörpern
2. IgG/Rf-adsorbiertes Serum mit spezifischen anti-Chlamydien-IgM-Antikörpern (AK₁) + Chlamydia trachomatis infizierte Zellen (Ag)
↓
AK₁Ag-Komplex
3. AK₁Ag-Komplex + HRPO-konjugiertes anti-human IgM (AK₂)
↓
AK₁AgAK₂-Komplex
4. AK₁AgAK₂-Komplex + Chromogen/Substrat
↓
Unlösliches, farbiges Präzipitat

4

Packungsinhalt

Kat.-Nr.: 410

1. **Objektträger:** 8 Objektträger à 12 Testfelder, gebrauchsfertig, beschichtet mit Chlamydia trachomatis L₂-infizierten und nichtinfizierten Zellen. Mit Trockenmittel einzeln in Aluminiumfolie eingeschweißt.
2. **IgM-Konjugat:** 1 Fläschchen à 1,0 ml, gebrauchsfertig, Kaninchen-Anti-Human IgM-Antikörper (μ -Ketten spezifisch), HRPO-konjugiert.
3. **Negative Kontrolle:** 1 Fläschchen à 0,5 ml, gebrauchsfertig, Chlamydien-IgM negatives Humanserum.
4. **Positive Kontrolle:** 1 Fläschchen à 0,5 ml, gebrauchsfertig, Chlamydien-IgM positives Humanserum.
5. **IPAzyme Pufferkonzentrat:** 1 Flasche à 100 ml, 20-fach konzentriert.
6. **Verdünnungspuffer:** 1 Fläschchen à 4,0 ml, 10-fach konzentriert.
7. **Chromogen/Substrat:** 1 Fläschchen à 2,0 ml, gebrauchsfertig.
8. **IgG/Rf-Fällungsreagenz:** 1 Fläschchen à 2,5 ml, 10-fach konzentriert.
9. **Fällungs-Stoppreagenz:** 1 Fläschchen à 4,0 ml, 10-fach konzentriert.

10. Einbettungsmedium: 1 Fläschchen à 4,0 ml, gebrauchsfertig.

Sonstiges:

15 Deckgläser.

1 Arbeitsanleitung.

1. Lagerung und Haltbarkeit

Material/Reagenz	Zustand	Lagerung	Stabilität
Testpackung	ungeöffnet	2...8°C	bis Verfalldatum
Objektträger mit Antigenbeschichtung	ungeöffnet	2...8°C	bis Verfalldatum
Konjugat	geöffnet	2...8°C	8 Wochen
Kontrollen	geöffnet	2...8°C	8 Wochen
IPAzyme Pufferkonzentrat, gebrauchsfertig, verdünnt	1+19	2...8°C	8 Wochen
Chromogen/Substrat	geöffnet	2...8°C	8 Wochen
Einbettungsmedium	geöffnet	2...8°C	8 Wochen
Verdünnungsmedium	Aliquots 1+9		sofort verbrauchen
IgG/Rf-Fällungsreagenz	Aliquots 1+9		sofort verbrauchen
Fällungs-Stoppreagenz	Aliquots 1+9		sofort verbrauchen

* Die Reagenzien sind nach Ablauf des angegebenen Verfalldatums nicht mehr zu verwenden.

2. Zusätzlich benötigte Reagenzien und Materialien

- 2.1. Reagenzgläser und Reagenzglasständer für die IgG/Rf-Fällung und die Serumverdünnungen.
- 2.2. Variable Mikropipetten (10-200 μ l, 100-1000 μ l) und Pipettenspitzen.
- 2.3. 1000 ml und 50 ml Messzylinder.
- 2.4. 1000 ml und 50 ml Becherglas.
- 2.5. 2 Spritzflaschen.
- 2.6. Färbetrog mit Objektträgerereinsatz.
- 2.7. Inkubator, 37°C.
- 2.8. Feuchte Kammer.
- 2.9. Kühlschrank, 4°C.
- 2.10. Zentrifuge mit 3000 μ pm, 4°C oder Raumtemperatur.
- 2.11. Vortexer.
- 2.12. Fön.
- 2.13. Lichtmikroskop mit Blaufilter und 200 x Vergrößerung.
- 2.14. Aqua ad iniectabilia (Aqua bidest.).

3. Ansetzen der Reagenzien

3.1. Handhabung der Objektträger:

Objektträger unmittelbar vor Gebrauch aus den Folien nehmen, um Einfluß von Luftfeuchtigkeit auf die Antigenbeschichtung zu vermeiden. Sollten die Objektträger aufgrund geringen

Probenaufkommens zerschnitten werden, Reste fest, zusammen mit dem Trockenmittel, in dem Aluminiumbeutel verschließen.

3.2. IPAzyme-Pufferlösung:

100 ml IPAzyme-Pufferkonzentrat werden mit 1900 ml Aqua ad iniectabilia (Aqua bidest.) verdünnt.

3.3. IgG/Rf-Fällungsreagenz:

Pro Patientenserum sowie positiver und negativer Kontrolle werden je 10 μ l konzentriertes Fällungsreagenz benötigt.

Nach Umrechnung der entsprechenden Menge wird sie entnommen und mit IPAzyme Puffer 1:10 verdünnt (1 Teil Fällungsreagenz + 9 Teile Puffer).

3.4. Verdünnungsmedium:

Pro Patientenserum sowie positiver und negativer Kontrolle werden je 20 μ l Verdünnungsmedium benötigt.

Nach Umrechnung der entsprechenden Menge wird sie entnommen und mit Aqua bidest. 1:10 verdünnt (je 1 Teil Verdünnungsmedium + 9 Teile Aqua ad iniectabilia (Aqua bidest).

3.5. Fällungs-Stoppreagenz:

Pro Patientenserum sowie positiver und negativer Kontrolle werden je 20 μ l Fällungs-Stoppreagenz benötigt.

Nach Umrechnung der entsprechenden Menge wird sie entnommen und mit Aqua bidest. 1:10 verdünnt (je 1 Teil Fällungs-Stoppreagenz + 9 Teile Aqua ad iniectabilia (Aqua bidest).

- 3.6. Die Einzelkomponenten der Testpackung wurden als Einheit getestet. Komponenten verschiedener Chargen oder Packungen anderer Hersteller sollten nicht zusammen eingesetzt werden.

Wichtig:

Fällungs-Stoppreagenz und Verdünnungsmedium werden vor jedem Test frisch angesetzt. Überschuß wird verworfen!

Während der Fällungs-Inkubation (Punkt 5A.3) wird das vorbereitete Fällungs-Stoppreagenz mitgekühlt.

4. Untersuchungsmaterial

4.1. Art des Untersuchungsmaterials:

- Humanseren, frei von Erythrozyten und bakterieller Kontamination.

4.2. Gewinnung des Untersuchungsmaterials:

- Serum: durch Venenpunktion gewonnenes Blut 10 min. bei 3000 Upm (Tischzentrifuge) und Raumtemperatur zentrifugieren. Serum-überstand sammeln.

4.3. Probenvorbehandlung:

- Eine Inaktivierung der Patientenserum ist generell nicht erforderlich, in bestimmten Fällen aber ratsam (z. B. HIV-Seren).

4.4. Lagerungsbedingungen:

- Seren bis zu 2 Tagen bei 2...8°C. Bei längerer Lagerung -18°C oder darunter. Bei mehrmaligem Bedarf Lagerung der Proben in Aliquots bei -18°C oder darunter (wiederholtes Einfrieren und Auftauen kann zu IgM-Antikörper-Titerabfällen führen).

5. Arbeitsvorschrift

Alle Reagenzien müssen vor Versuchsbeginn Raumtemperatur erreicht haben.

5A. IgG-Rf-Absorption

Wichtig: Zusätzlich zu den Seren müssen Aliquots der Kontrollen für jeden Testlauf mitgefällt werden.

Anmerkung:

Die IgG-Rf-Fällung kann am Tag vor der IgM-Antikörperbestimmung durchgeführt werden. Testverdünnung bei + 2...8°C aufbewahren.

5A.1.

50 μ l Serum +	50 μ l pos. Kontrolle +	50 μ l neg. Kontrolle +
50 μ l verd. IgG/Rf- Fällungsreagenz	50 μ l verd. IgG/Rf- Fällungsreagenz	50 μ l verd. IgG/Rf- Fällungsreagenz

100 μ l (Verd. 1:2) 100 μ l (Verd. 1:2) 100 μ l (Verd. 1:2)

5A.2

leicht vortexen

5A.3

sofort 30 Min. bei
0°C bis 4°C inkubieren

5A.4

100 μ l Fällungs-Stoppreagenz
zugeben (Verd. 1:4)

5A.5

leicht vortexen

5A.6

sofort 15 Min. bei 3000 Upm,
4°C oder Raumtemperatur zentrifugieren

5A.7

50 μ l Überstand abheben

5A.8

150 μ l Verdünnungspuffer zugeben

5A.9

Testverdünnung 1:16

5B. Testdurchführung

5B.1 Objektträger aus der Packung nehmen und beschriften. In die Vertiefungen absorbierte Serumverdünnungen bzw. Kontrollen in der Testverdünnung füllen:

Vorbehandelte Seren je 10 μ l 1:16 Vorbehandelte Kontrollen je 10 μ l 1:16

5B.2 2 Stunden Inkubation bei 37°C (feuchte Kammer)

5B.3 Kurz mit IPAzyme-Puffer waschen (Spritzflasche), dann 5 Min. in mit Puffer gefülltem Färbetrog

5B.4 Kurz mit Aqua ad iniectionem (Aqua bidest.) waschen (Spritzflasche)

5B.5 Mit Fön trocknen

5B.6 Zugabe von je 10 μ l HRPO-IgM

5B.7 45 Min. Inkubation bei 37°C (feuchte Kammer)

5B.8 Waschen, Trocknen wie unter Punkten 5B.3-5B.5

5B.9 Zugabe von je 10 μ l Chromogen/Substrat

5B.10 10 Min. Inkubation bei Raumtemperatur

5B.11 Waschen, Trocknen wie unter Punkten 5B.3-5B.5

5B.12 Einige Tropfen Einbettungsmedium zwischen die Vertiefungen geben, Deckgläser auflegen. Luftblasen vermeiden!

5B.13 Mikroskopische Auswertung: Objektiv 10 \times 20
Die Verwendung eines Blaufilters wird empfohlen

5B.14 Positiv: Blaues Präzipitat in den Zellen
Negativ: Keine Anfärbung

Allgemeine Handhabungshinweise

- Reagenzienflaschen und deren Verschlüsse nicht vertauschen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Reagenzienflaschen sofort nach Gebrauch wieder fest verschliessen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- Nach Gebrauch die Reagenzien sofort wieder, entsprechend den vorgeschriebenen Lagerungsbedingungen, lagern, um die angegebene Haltbarkeit zu gewährleisten.

Sicherheitshinweise

- Die einschlägigen Richtlinien für Laboratorien und die Unfallverhütungsvorschriften sind zu beachten.
- Nicht mit dem Mund pipettieren (siehe auch BGW-Merkblatt M 651 "Richtig Pipettieren") (28).
- Die Reagenzien humanen Ursprungs wurden auf HBsAg und HIV-1- und -2-Antikörper untersucht und für nicht reaktiv befunden.
Es ist aber wahrscheinlich, daß Antikörper gegen das Hepatitis-C-Virus nachweisbar sind. Obwohl die Nachweisbarkeit von HCV-Antikörpern nicht zwingend bedeuten muß, daß die Materialien infektiös sind, sollten zur Vermeidung eines Ansteckungsrisikos geeignete Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung beachtet werden.
- Negative Kontrolle: Xn, mindergiftig, R22, S46, enthält NaN₃

Positive IgM-Kontrolle: Xn, mindergiftig, R22, S46, enthält NaN₃.

6. Entsorgungshinweise

Chemikalien und Zubereitungen, die als Reststoffe anfallen, sind in der Regel Sonderabfälle. Deren Beseitigung unterliegt den abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen des Bundes und der Länder. Die zuständige Behörde oder Abfallbeseitigungsunternehmen informieren über die Entsorgung von Sonderabfällen.

Hinweise auf Entsorgungsmöglichkeiten gibt ebenfalls das amtliche Merkblatt über die Vermeidung und die Entsorgung von Abfällen aus öffentlichen und privaten Einrichtungen des Gesundheitsdienstes (veröffentlicht u.a. im Staatsanzeiger für das Land Hessen, Nr. 44 vom 04. November 1991, S.2449).

6A. Testbeurteilung (Validität)

Eine lichtmikroskopische Auswertung wird bei einer Vergrößerung von 10X20 vorgenommen; die Verwendung eines Blaufilters ist empfehlenswert.

Der Test ist auswertbar, wenn bei der positiven IgM-Kontrolle ca. 1/4 der Zellen ein dunkles Präzipitat bzw. eine halbmondförmige Anfärbung unterschiedlichen Ausmaßes an der inneren Membran der infizierten Zellen zeigen, und ca. 3/4 der Zellen ungefärbt sind.

6B. **Allgemeine IgM-Interpretation**

Erscheint eine entsprechende Reaktion in den infizierten Zellen, gilt das Ergebnis als positiv. Erscheint keine Reaktion in den infizierten Zellen, gilt das Ergebnis als negativ. Ist die Reaktion in den infizierten Zellen blass graublau, gilt das Ergebnis als grenzwertig.

Jeder IgM-Wert sollte in fraglichen Fällen in Verbindung mit IgA und IgG, dem klinischen Bild und weiteren diagnostischen Parametern interpretiert werden. Auf jeden Fall sollten die direkten Erregernachweise auf *Chlamydia trachomatis* und/oder *Chlamydia pneumoniae* bzw. *Chlamydia psittaci* geführt werden.

6C. **Spezifische IgM-Interpretation**

Mögliche Ergebnisse IgM	Interpretation
+	Anzeichen einer akuten, perakuten oder prächronischen Infektion.
+/-	Grenzwertig. Möglichkeit eines sehr frühen Stadiums einer akuten oder kürzlichen Infektion. Überprüfung des IgM nach 7-10 Tagen und Testung auf IgA und IgG.
-	Negativ im Hinblick auf anti-Chlamydien-IgM-Antikörper. Bei begründetem klinischen Verdacht Testung auf IgA und IgG.

Hinweis:

Bei sehr frischen, akuten Chlamydieninfektionen kann der serologische Antikörperbefund trotz Klinik und positivem Erregernachweis negativ ausfallen. Bei Wunsch nach serologischer Bestätigung eines positiven Erregernachweises bzw. einer Verlaufskontrolle empfehlen wir, nach 7-10 Tagen auf Serokonversion zu testen.

6D. **Anmerkung**

Vorgehen bei Wunsch einer IgM-Beurteilung bei fehlenden klinischen Symptomen:

Ermittlung eines mindestens 2-fachen IgM-Titeranstiegs zwischen 2 Seren im Abstand von 7-10 Tagen.

7. **Fehlermöglichkeiten**

7.1. **Keine/zu schwache Anfärbung der Positivkontrollen:**

- Fällungs-Stoppreakanz mit Verdünnungsmedium statt mit Aqua ad iniectabilia (Aqua bidest.) angesetzt.
- Objektträger nicht vollständig nach Waschen getrocknet.

7.2. **Körniger Hintergrund:**

- Objektträger nicht ausreichend gewaschen.
- Waschen mit Aqua ad iniectabilia (Aqua bidest.) vergessen.
- Kein Aqua ad iniectabilia (Aqua bidest.) verwendet.

- 7.3. **Zellen lysiert:**
- Bakterielle Kontamination der Proben.
 - Kratzen mit der Pipettenspitze auf der Beschichtung der Objektträger beim Aufbringen der Lösungen.
8. **Hinweise**
- 8.1. Der IPAzyme Chlamydia-IgM-Test ist ein 1-Antigen (L₂) Immunperoxidase-Test. L₂ enthält antigene Determinanten, die auch bei den anderen 14 Serotypen von *Chlamydia trachomatis* vorkommen, ebenso wie in dem Gruppenantigen. Somit werden spezifische Antikörper gegen *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) und *Chlamydia psittaci* erfaßt, desweiteren besteht die seltene Möglichkeit von Kreuzreaktionen mit *Acinetobacter calcoaceticus*.
- 8.2. Ein Überschuß an Lipiden im Serum kann eine "Film-Reaktion" bewirken, verursacht durch Lipide, die unspezifisch am Glas haften und schwer entfernt werden können. Diese seltene Reaktion kann an den Rändern der Testfelder, an denen das Serum mit der Schutzschicht der Objektträger in Kontakt kommt, beobachtet werden und sollte, da unspezifisch, ignoriert werden. Allein die im inneren Bereich der Testfelder beobachtete Reaktion sollte als Testergebnis bewertet werden.

9. Literatur

1. Sarov, I. and Becker, Y. (1968). RNA in Elementary Bodies of Trachoma Agent. Nature 217: 849-852.
2. Sarov, I. and Becker, Y. (1969). Trachoma Agent DNA, J. Mol. Biol. 42: 581-589.
3. Hatch, T.P.. Host Free-Activities of Chlamydia. In Mardh, P.A. et al. (Eds.) Chlamydial Infections, pp. 25-28. Elsevier Biomedical Press, 1982.
4. Weiss, E. (1965). Adenosine Triphosphate and Other Requirements for the Utilization of Glucose by Agents of the Psittacosis-Trachoma Group. J. Bacteriol. 90: 243-253.
5. Moulder, J.W. (1984). Looking at Chlamydia Without Looking at Their Hosts. ASM News 50: 353-362.
6. Kuo, C.C., Chen, H.H., Wang, S.P. and Grayston, J.T. (1986). Identification of a New Group of Chlamydia psittaci Strains Called TWAR. J. Clin. Microbiol. 24: 1034-1037.
7. Marrie, T.J., Grayston, J.T., Wang, S.P. and Kuo, C.C. (1987). Pneumoniae Associated with the TWAR Strain of Chlamydia. Ann. Int. Med. 106: 507-511.
8. Dhir, S.P., Hakomori, S., Kenny, G.E. and Grayston, J.T. (1972). Immunochemical Studies on Chlamydial Group Antigen (Presence of a 2-Keto-3-Deoxycarbohydrate as Immunodominant Group). J. Immunol. 109: 116-122.

9. Wang, S.P., Grayston, J.T. (1982) Micro-Immunofluorescence Antibody Response in Chlamydia trachomatis Infection, a Review. In Mardh, P.A. et al. (Eds.). Chlamydial Infections, pp. 301-316. Elsevier Biomedical Press,.
10. Ladany, S. and Sarov, I. (1985). Recent Advances in Chlamydia trachomatis. Eur. J. Epidemiol. 1: 235-256.
11. Gardner, P.S. (1980): Rapid Virus Diagnosis. In Voller, A., Bartlett, A.B.A. and Bidwell, D. (Eds.). Immunoassays for the 80s, pp. 353-360. M.T.P. Press Limited.
12. Schachter, J. (1986) Human Chlamydia psittaci Infection. In Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J. and Ward, M. (Eds.). Chlamydial Infections, pp. 311-320. Cambridge University Press.
13. Schachter, J., Grossman, M. and Azimi, P.H. (1982). Serology of Chlamydia trachomatis in Infants. J. infect. Dis. 146: 530-535.
14. Puolakkainen, M., Saikku, P., Leinonen, M., Nurminen, M., Vaananen, P. and Makela, P.H. (1984). Chlamydial Pneumonitis and its Serodiagnosis in Infants. J. Infect. Dis. 149: 598-604.
15. 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.
16. Linnanmäki, E., Hukki-Immonen, O., Ekman, M.-R., Saikku, P. (1991). Diagnosis of Chlamydia pneumoniae Infections. In: Chlamydial Infections of the Genital and Respiratory Tracts and Allied Conditions (Mardh, P.-A., Saikku, P., eds.), Center for STD Research, Uppsala University, Sweden, pp. 76-81.
17. Leinonen, M., Syrjälä, H., Kujala, P., Saikku, P. (1991). Serological diagnosis of Chlamydia pneumoniae (Cpn) pneumonia in adults. In: Abstracts of 31st ICAAC, Chicago, Illinois, Sept. 29-Oct. 2nd. Washington, D.C.: Amer. Soc. Microbiol., 209.
18. Paran, H., Heimer, D. and Sarov, I. (1986). Serological, Clinical and Radiological Findings in Adults with Bronchopulmonary Infections Caused by Chlamydia trachomatis. Israel J. Med. Sci. 22: 823-827.
19. Sweet, R.L., Landers, D.V., Walder, C., Schachter, J. (1987). Chlamydia trachomatis Infection and Pregnancy Outcome. Am. J. Obstet. Gynecol. 156: 824-833.
20. Treharne, J.D., Ripa, K.T., Mardh, P.A., Svensson, L., Westorm, L. and Darougar, S. (1979). Antibodies to Chlamydia trachomatis in Acute Salpingitis. Br. J. Vener. Dis. 55: 26-29.
21. Osser, S. and Persson, K. (1982). Epidemiologic and Serodiagnostic Aspects of Chlamydial Salpingitis. Obstet. Gynecol. 59: 206-209.

22. Keat, A.C., Thomas, B.J., Taylor-Robinson, D., Pegrum, G.D., Maini, R.N. and Scott, J.T. (1980). Evidence of Chlamydia trachomatis Infection in Sexually Acquired Reactive Arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 39: 431-437.

23. Simmons, P.D., Forsey, T., Thin, R.N., Treharne, J.D., Darougar, S., Langlet, F. and Pandhi, R.K. (1979). Antichlamydial Antibodies in Pelvic Inflammatory Disease. *Br. J. Vener. Dis.* 55: 419-421.

24. Numazaki, K., Chiba, S., Yamanaka, T., Moroboshi, T., Aoki, K., Nakao, T. (1985). Detection of IgM Antibodies Against Chlamydia trachomatis by Enzyme Linked Fluorescence Immunoassay. *J. Clin. Pathol.* 38: 733-739.

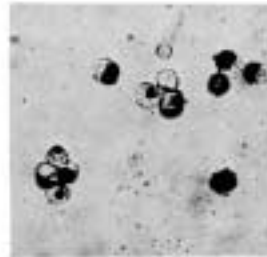
25. Chantler, S. and Diment, J.A.: Current Status of Specific IgM Antibody Assays. In Voller, A., Bartlett, A.B.A. and Bidwell, D. (Eds.). *Immunoassays for the 80s*, pp. 417-430. M.T.P. Press Limited. 1980.

26. Holborow, E.J., Weir, D.M. and Johnson, G.D. (1957). A Serum Factor in Lupus Erythematosus with Affinity for Tissue Nuclei. *Br. Med. J.* 11: 732-734.

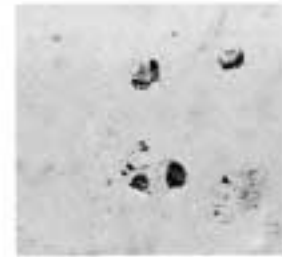
27. Berg, P.A., Roitt, I.M., Doniach, D. and Cooper, H.M. (1969). Mitochondrial Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis IV. Significance of Membrane Structure for the Complement Fixing Antigen. *Immunol.* 17: 291-293.

28. Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege (BGW), Pappelallee 35/37, 22089 Hamburg.

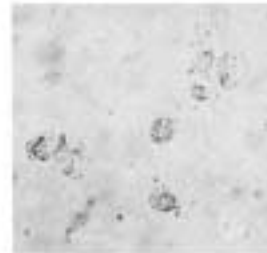
Vergrößerung 10X20



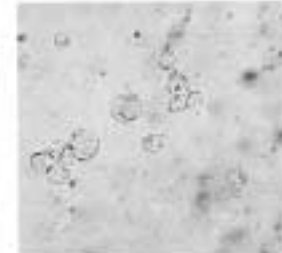
Positiv (+)



Positiv (+)



Grenzfall (±)



Negativ (—)