



SeroCT™ IgG (RT)

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) für den Nachweis spezifischer IgG-Antikörper gegen *Chlamydia trachomatis* im humanem Serum

Arbeitsanleitung

Testkit für 96 Bestimmungen

REF: 1181-01

Nur zur in-vitro-Diagnostik

Nur für Fachpersonal

Lagerung bei 2-8°C. **Nicht einfrieren**



Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003
ISRAEL

Tel. +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Verwendungszweck

Das SeroCT™ RT IgG-Kit dient zum Nachweis von IgG-Antikörpern spezifisch für *C. trachomatis* im humanen Serum.

Das Savyon® SeroCT™ RT IgG-Kit gehört zu einer neuen Generation qualitativer ELISA-Testsysteme und basiert auf *Chlamydia trachomatis*-spezifischen synthetischen Peptiden. SeroCT™ RT wird als hilfreiche Unterstützung bei der Diagnose von *C. trachomatis*-Infektionen verwendet. SeroCT™ RT IgG ist zur Durchführung und Interpretation gemeinsam mit dem Savyon® SeroCT™ RT IgA-Kit vorgesehen.

Nur zur in-vitro-Diagnostik

Einführung

Chlamydien sind Gram-negative, obligat intrazelluläre Bakterien, die akute und chronische Erkrankungen bei Säugetieren und Vögeln verursachen. Die Gattung *Chlamydia* umfasst vier Spezies: *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci* und *C. pecorum* (1-4).

C. trachomatis ist in 15 Serovare unterteilt (5-8).

Die Serovare A, B, Ba und C verursachen das Trachom (9), eine Augenkrankheit, die unbehandelt zur Erblindung führen kann und meist in den Tropen und Subtropen vorkommt. Die Serovare L₁-L₃ sind die Erreger des Lymphogranuloma venereum. Die Serovare D-K sind eine der weltweit häufigsten Ursache sexuell übertragener Infektionen: Zervizitis, Endometritis/Salpingitis (10) bei Frauen und Urethritis (11) bei Männern und Frauen. Endometritis/Salpingitis können zu Tubenverschluss führen

mit einem erhöhten Risiko extrauteriner Graviditäten und Infertilität. Die durch Geschlechtsverkehr übertragene Infektion kann akut und chronisch verlaufen, häufig ohne klinische Symptomatik. Im Allgemeinen sind diese Infektionen gut behandelbar, sofern sie richtig erkannt werden. Unbehandelt können sie schwerwiegende chronische Entzündungen verursachen, die zu Infertilität, ektopter Schwangerschaft, Fehlgeburt oder Frühgeburt führen. Außerdem können sich Neugeborene bei der Geburt durch ihre infizierten Mütter mit *C. trachomatis* infizieren. Dies führt zu Konjunktivitis oder Pneumonie (12-14). Die Serologie von *C. trachomatis*-Infektionen ist bei chronischen Verläufen von größerem Interesse als bei akuten Infektionen.

C. pneumoniae ist ein wichtiger Erreger von Atemwegkrankungen beim Menschen und verursacht bis zu 10% der Fälle von Lungenentzündung. Er wird mit akuten Atemwegkrankungen wie Pneumonie, Asthma, Bronchitis, Pharyngitis, akutes Thorax-Syndrom bei Sichelzellenanämie, Koronarer Herzerkrankung und Guillain-Barré-Syndrom (15-17) in Verbindung gebracht.

C. psittaci infiziert unterschiedliche Wirtspezies von Mollusken über Vögel bis Säugetiere und verursacht ebenfalls schwer verlaufende Pneumonien. *C. psittaci* und *C. pecorum* können verschiedene Krankheitsbilder, wie z.B. Pneumonie, Enteritis, Polyserositis, Enzephalitis und Konjunktivitis, bei Tieren hervorrufen.

Serologische Tests sind heute eine verbreitete und akzeptierte Methode. Es konnte gezeigt werden, dass sie für den Nachweis einer *C. trachomatis*-Infektion wertvolle Informationen liefern. Beim Verdacht auf aufgestiegene Infektionen vermindert die Serumentnahme die Notwendigkeit invasiver Eingriffe, die für einen direkten Antigen-Nachweis erforderlich wären. Bei Infektionen des unteren Genitaltraktes müssen Einschränkungen bei der Probenentnahme, wie z.B. Probleme bei der Entnahme oder im Umgang mit und beim Transport der Probe, berücksichtigt werden. Es ist hinlänglich bekannt, dass Chlamydieninfektionen häufig asymptomatisch verlaufen. Eine Infektion kann daher seit langem bestehen, in den oberen Genitaltrakt aufsteigen, schwerwiegende Folgeerkrankungen verursachen und die Wahrscheinlichkeit falsch-negativer Ergebnisse im direkten Antigen-Nachweis erhöhen. Serologische Tests zum Nachweis spezifischer Antikörper gegen *Chlamydia trachomatis* sind heute eine effiziente und häufig angewandte Methode (10,11,18,19). Neue und exakte Technologien nutzen die Immunglobuline IgM, IgA und IgG um das Bestehen und das Stadium einer Erkrankung zu identifizieren.

Spezifisches IgM ist ein Hinweis auf eine akute Chlamydieninfektion. Allerdings schließt das Fehlen von IgM insbesondere bei rezidivierenden und chronischen Fällen eine Infektion nicht aus. Die Verwendung von IgA als Marker für eine aktive Chlamydieninfektion erwies sich aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit als wichtig. IgA ist solange im Serum vorhanden wie die antigene Stimulation andauert. IgA eignet sich außerdem zur Erfolgskontrolle nach abgeschlossener Therapie. IgG ist ein Marker für Chlamydien-positive Immunantworten bei akuten, chronischen oder zurückliegenden Infektionen. Serologische Kreuzreaktionen zwischen den drei unterschiedlichen Chlamydien-Spezies treten auf. Die meisten serologischen Nachweistests wie Mikroimmunfluoreszenztests (MIF) oder ELISA verwenden entweder aufgereinigte

Elementarkörperchen, Lipopolysaccharide oder aufgereinigtes MOMP („major outer membrane protein“) als Antigene. Gattungsspezifische Epitope sind bei all diesen Antigenen vorhanden, geringe Spezies-Spezifität ist daher die Folge. Außerdem ist die Durchseuchung mit *C. pneumoniae* in der Bevölkerung hoch (ohne klinische Symptome) und Anti-Chlamydien-Antikörper sind daher sehr häufig. Deshalb ist die Differenzierung zwischen *C. pneumoniae*- und *C. trachomatis*-spezifischen Antikörpern mit Hilfe der üblichen serologischen Screeningverfahren (MIF, ELISA, EIA etc.) unzureichend.

Savyon® Diagnostics Ltd. hat einen Test entwickelt in dem *C. trachomatis*-Spezies-spezifische Epitope von verschiedenen Serotypen in einem Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) verwendet werden.

Der Test schließt Spezies-überkreuzende reaktive Epitope aus und ermöglicht so die spezifische Bestimmung von *C. trachomatis*-spezifischen IgG- und IgA-Antikörpern.

Testprinzip

- Die SeroCT™ RT-Mikrotiterplatten sind mit *C. trachomatis*-spezifischen Peptiden beschichtet.
- Das zu untersuchende Serum wird verdünnt und in der beschichteten SeroCT™ RT-Mikrotiterplatte für 30 Minuten bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. In diesem Schritt werden *C. trachomatis*-spezifische Antikörper an die immobilisierten *C. trachomatis*-Peptide gebunden.
- Nicht-spezifische Antikörper werden durch waschen entfernt.
- Anti-Human IgG-konjugierte Horseradish-Peroxidase (HRP) wird hinzugefügt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. In diesem Schritt wird das HRP-Konjugat an die zuvor gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexe gebunden.
- Nicht-gebundenes Konjugat wird durch waschen entfernt.
- Nach dem Hinzufügen des TMB-Substrats, wird das Substrat durch die Peroxidase hydrolysiert. Dies führt zur Blaufärbung des reduzierten Substrats.
- Nach dem Hinzufügen der Stopplösung erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Absorption wird mit einem Photometer bei 450/620 nm gemessen.
- Die Absorption ist proportional zur Menge der spezifischen Antikörper, die an die immobilisierten Peptide gebunden sind.

Zusammenfassung der Testdurchführung: Manuell/Automat*

Wells der Mikrotiterplatte sind mit *C. trachomatis*-Antigenen beschichtet.

↓
2x 100µl der Cut-Off-Kontrolle hinzufügen.

Je 1x 100µl der Negativ-Kontrolle, Positiv-Kontrolle und der verdünnten Serumproben hinzufügen.

↓
Platte abdecken und für 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.

↓
5x mit dem Waschpuffer waschen.

↓
100 µl des gebrauchsfertigen HRP-Konjugats hinzufügen.



Platte abdecken und für 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.

↓
5x mit dem Waschpuffer waschen.

↓
100 µl TMB-Substrat dazu geben.

↓
Platte abdecken und für 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.

↓
100 µl Stopplösung dazu geben.

↓
Absorption bei 450/620 nm messen.

↓
Ergebnisse berechnen und interpretieren.

*Testdurchführung mit Automat:

Serumproben und Kontrollen 20 min bei RT inkubieren.

5x mit dem Waschpuffer waschen.

Inhalt des Kits: Manuell/Automat

Testkit für 96 Bestimmungen

Inhalt des Kits: Manuell/Automat

Katalog Nr.: A1181-01M / A1181-01D

1. ***C. trachomatis*-Antigen-beschichtete Mikrotiterplatte:** 96-Well-Platte mit 12 Einzelstreifen à 8 Wells, beschichtet mit *C. trachomatis*-spezifischen Peptiden, in einem Aluminiumbeutel mit Trocknungskarte.
1 Platte/ 1 Platte
2. **Waschpuffer-Konzentrat (20x): PBS-Tween-Puffer.**
1 Flasche, 100 ml / 1 Flasche, 100 ml
3. **Serumverdünnung-RT (blau):** Gebrauchsfertige Pufferlösung. Enthält weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel.
1 Flasche, 30 ml / 1 Flasche, 60 ml
4. **Gebrauchsfertiges HRP-Konjugat (grün):** Horseradish-Peroxidase (HRP)-konjugiertes Anti-Human IgG (Gamma-Kette-spezifisch). Enthält weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel.
1 Flasche, 10 ml
5. **Cut-Off-Kontrolle:** Gebrauchsfertiges *C. trachomatis* IgG-Serum für die Bestimmung des Cut-Off-Werts. Enthält weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel.
1 Fläschchen, 2,5 ml / 1 Fläschchen, 2,5 ml
6. **Negativ-Kontrolle:** Gebrauchsfertiges *C. trachomatis* IgG-negatives Humanserum. Enthält weniger als 0,05% Proclin und weniger als 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel.
1 Fläschchen, 2 ml / 1 Fläschchen, 2 ml
7. **Positiv-Kontrolle:** Gebrauchsfertiges *C. trachomatis* IgG-positives Humanserum. Enthält weniger als 0,05% Proclin und weniger als 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel.
1 Fläschchen, 2 ml / 1 Fläschchen, 2 ml
8. **TMB-Substrat:** Gebrauchsfertige Lösung enthält 3, 3', 5, 5' - Tetramethylbenzidin als Chromogen und Peroxid als Substrat.
1 Flasche, 14 ml / 1 Flasche, 16 ml
9. **Stopplösung:** Gebrauchsfertige Lösung enthält 1M H₂SO₄.
1 Flasche, 15 ml / 1 Flasche, 16 ml
10. **Plattendeckel** **1/0**
11. **Packungsbeilage:** **1/1**

Erforderliche Materialien, die nicht im Kit enthalten sind:

1. Saubere Gefäße zur Verdünnung der Patientenserum
2. Einstellbare Mikropipetten oder Multikanalpipetten (5-50, 50-200 und 200-1000 µl) und Einwegspitzen
3. 1-Liter-Messkolben
4. Ein 50 ml-Messzylinder
5. Waschflasche
6. Saugpapier
7. Vortex-Mischer
8. ELISA-Mikrotiterplatten-Reader mit 450 nm Filter
9. Destilliertes oder doppelt-deionisiertes Wasser

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Nur zur *in-vitro*-Diagnostik

1. Humane Seren, die in diesem Testkit enthalten sind wurden nach FDA- und CE-genehmigten Methoden geprüft und als negativ für HB-Antigen- sowie HCV-, HIV1- und HIV2-Antikörper befunden. Dennoch ist bei Produkten menschlichen Ursprungs mit keiner der derzeit bekannten Methoden mit letzter Sicherheit auszuschließen, dass diese Krankheiten übertragen können. Daher müssen alle in diesem Testkit enthaltenen Reagenzien menschlichen Ursprungs nach den in der CDC/NIH Anleitung veröffentlichten "Biosafety in Micro Biological and Biomedical Laboratories", 1988 grundsätzlich als potentiell infektiöses Serum oder Blut angesehen und entsprechend behandelt werden.
2. Die TMB-Substrat-Lösung reizt Haut und Schleimhäute. Direkter Kontakt ist zu vermeiden.
3. Verdünnte Schwefelsäure (1M H₂SO₄) ist ätzend für Augen und Haut. Bei Kontakt mit Augen, sofort mit viel Wasser auswaschen und Arzt aufsuchen.
4. Alle Bestandteile dieses Kits wurden in der Lieferserie kalibriert und getestet. Es wird nicht empfohlen, die Bestandteile unterschiedlicher Chargen zu vermischen, da es die Ergebnisse beeinflussen könnte.

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

1. Alle mitgelieferten Reagenzien sollten bei 2-8°C gelagert werden. Ungeöffnete Reagenzienfläschchen sind bis zu dem auf der Kit-Verpackung angegebenen Haltbarkeitsdatum haltbar. Original verschlossene Reagenzien, die für einige Stunden der Außentemperatur ausgesetzt waren, werden keinen Schaden nehmen. **NICHT EINFRIEREN!**
2. Einmal geöffnet hat das Kit eine Haltbarkeit von 90 Tagen.
3. Nicht verwendete Streifen müssen im verschlossenen Aluminiumbeutel mit Trocknungskarte aufbewahrt werden. Dafür muss der Beutel sorgfältig mit Klebeband über die gesamte Länge verschlossen werden.
4. Falls sich Kristalle im kühlgelagerten 20x- Waschpuffer ausbilden, ist dies nicht ungewöhnlich. Vor dem Verdünnen, Kristalle durch Erwärmen des Waschpuffers auf 37°C auflösen.

Serumgewinnung

Serum aus aseptisch gewonnenen Proben mit Standardmethoden vorbereiten. Hitzeinaktivierte Seren sollten nicht verwendet werden. Die Verwendung lipämischer, trüber oder kontaminierter Seren wird nicht

empfohlen. Partikel oder Präzipitate im Serum können Ergebnissen verfälschen. Solche Proben sollten vor der Verwendung zentrifugiert oder filtriert werden.

Lagerung

Serumproben sollten bei 2-8°C gelagert und innerhalb von 7 Tagen untersucht werden. (Die Zugabe von 0,1% Natriumazid wird empfohlen.) Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei -20°C eingefroren werden. Häufiges Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden.

Manuelle Testdurchführung:

Die folgende Testdurchführung ist für die manuelle Abarbeitung.

A. Vorbereitung der Reagenzien

1. Bringen Sie alle Kit-Bestandteile und zu untersuchende Patientenproben auf Raumtemperatur. Die Cut-Off-, Negativ- und Positiv-Kontrolle sowie Patientenproben vor Gebrauch gründlich mischen.
2. Legen Sie die Anzahl der zu untersuchenden Proben fest. Folgende Kontrollen müssen bei jeder Testung mitgeführt werden: 2x Wells für die Cut-Off-Kontrolle, 1x Well für die Negativkontrolle und 1x Well für die Positivkontrolle.
3. Schneiden Sie den Aluminiumbeutel nahe am Verschluss auf und entnehmen Sie die Mikrotiterplatte. Befestigen Sie die benötigte Anzahl der Streifen (je nach Anzahl der zu untersuchenden Proben) im 96-Well-Rahmen.
4. Verdünnen Sie das Waschpuffer-Konzentrat 1/20 mit doppelt-deionisiertem oder destilliertem Wasser. **Zum Beispiel:** Um 1 Liter Waschpuffer herzustellen, geben Sie 50 ml Waschpuffer-Konzentrat zu 950 ml deionisiertem oder destilliertem Wasser.

B. Inkubation der Serumproben und Kontrollen

5. Verdünnen Sie jedes Patientenserum 1/11 mit der mitgelieferten Serumverdünnung-RT. **Zum Beispiel:** 25 µl Patientenserum zu 250 µl Serumverdünnung-RT geben.
6. Pipettieren Sie die Cut-Off-Kontrolle in Duplikaten: Je 100 µl in das Well. Geben Sie je 100 µl der Negativ-, Positiv-Kontrolle und der 1/11 verdünnten Serumproben in separate Wells auf dem Streifen.
7. Legen Sie den Plattendeckel auf die Platte und inkubieren für 30 Minuten bei Raumtemperatur (22°C-28°C).
8. Entfernen Sie die Flüssigkeiten aus den Wells.
9. **Waschschritt:** Füllen Sie alle Wells randvoll mit Waschpuffer (300-350 µl) und werfen Sie anschließend die Flüssigkeit. Diesen Vorgang viermal wiederholen, so dass am Ende fünfmal gewaschen wurde.
10. Trocknen Sie die Streifen durch leichtes Abklopfen auf sauberem Saugpapier.

C. Inkubation mit Konjugat

11. Pipettieren Sie je 100 µl des gebrauchsfertigen HRP-Konjugats in jedes Well.
12. Legen Sie den Plattendeckel auf die Platte und inkubieren für 30 Minuten bei Raumtemperatur (22°C-28°C).
13. Entfernen Sie die Flüssigkeiten aus den Wells und waschen Sie wie in Punkt 9-10 beschrieben.

D. Inkubation mit TMB-Substrat

- 14. Geben Sie je 100 µl des TMB-Substrats in jedes Well. Legen Sie den Plattendeckel auf und inkubieren für **30 Minuten** bei Raumtemperatur (22°C-28°C).
- 15. Beenden Sie die enzymatische Reaktion durch die Zugabe von je 100 µl Stopplösung (1M H₂SO₄) in jedes Well.

E. Messen der Testergebnisse

- 16. Messen Sie die Absorption bei 450/620 nm und halten Sie die Ergebnisse fest. Die Absorption sollte innerhalb von 30 Minuten nach Abstoppen der Farbreaktion bestimmt werden.

Hinweis: Luftblasen sollten vor dem Ablesen entfernt werden. Der Boden der ELISA-Platte sollte sauber sein.

Testdurchführung mit Automat

Die Reagenzienfläschchen und deren Volumen wurden an die Testdurchführung mit Hilfe eines ELISA-Automaten angepasst.

A. Vorbereitung der Reagenzien

- 1. Bringen Sie alle Kit-Bestandteile und zu untersuchende Patientenproben auf Raumtemperatur. Die Cut-Off-, Negativ- und Positiv-Kontrolle sowie Patientenproben vor Gebrauch gründlich mischen.
- 2. Zusätzlich zu den Patientenproben müssen folgende Kontrollen bei jeder Testung mitgeführt werden: 2x Wells für die Cut-Off-Kontrolle, 1x Well für die Negativ-Kontrolle und 1x Well für die Positiv-Kontrolle.
- 3. Schneiden Sie den Aluminiumbeutel nahe am Verschluss auf und entnehmen Sie die Mikrotiterplatte. Befestigen Sie die benötigte Anzahl der Streifen (je nach Anzahl der zu untersuchenden Proben) im 96-Well-Rahmen.
- 4. Verdünnen Sie das Waschpuffer-Konzentrat 1/20 mit doppelt-deionisiertem oder destilliertem Wasser. **Zum Beispiel:** Um 1 Liter Waschpuffer herzustellen, geben Sie 50 ml Waschpuffer-Konzentrat zu 950 ml deionisiertem oder destilliertem Wasser.

B. Inkubation der Serumproben und Kontrollen

- 5. Verdünnen Sie jedes Patientenserum 1/11 mit der mitgelieferten Serumverdünnung-RT. **Zum Beispiel:** 25 µl Patientenserum zu 250 µl Serumverdünnung geben.
- 6. Pipettieren Sie die Cut-Off-Kontrolle in Duplikaten: 100 µl in jedes Well. Geben Sie je 100 µl der Negativ-, Positiv-Kontrolle und der 1/11 verdünnten Serumproben in separate Wells auf dem Streifen.
- 7. Inkubieren Sie für 20 Minuten bei Raumtemperatur (22°C-28°C).
- 8. **Berücksichtigen Sie den Assay-Drift, der durch das Pipettieren hervorgerufen wird.**
- 9. Waschschrift: 5x mit 500 µl Waschpuffer waschen.
- 10. Zwei Absaugzyklen durchführen.

C. Inkubation mit Konjugat

- 11. Geben Sie je 100 µl des gebrauchsfertigen HRP-Konjugats in jedes Well.
- 12. Inkubieren Sie für 30 Minuten bei Raumtemperatur (22°C-28°C).
- 13. Waschschrift: wie in Punkt 9-10 beschrieben.

D. Inkubation mit TMB-Substrat

- 14. Geben Sie je 100 µl des TMB-Substrats in jedes Well und inkubieren für 30 Minuten bei Raumtemperatur (22°C-28°C) im Dunkeln.
- 15. Beenden Sie die enzymatische Reaktion durch die Zugabe von 100 µl Stopplösung (1M H₂SO₄) in jedes Well.

E. Messen der Testergebnisse

- 16. Bestimmen Sie die Absorption bei 450/620 nm und halten Sie die Ergebnisse fest. Die Absorption sollte innerhalb von 30 Minuten nach Abstoppen der Farbreaktion gemessen werden.

Bitte beachten Sie: Jeder ELISA-Automat weist besondere technische Spezifikationen auf. Bitte verwenden Sie daher diese Testanleitung in Abstimmung mit der Bedienungsanleitung Ihres Automaten.

Testbewertung

Für die Gültigkeit der Testung müssen folgende Kriterien erfüllt werden. Sind sie nicht erfüllt sind, so ist der Test als invalide zu bewerten und muss wiederholt werden.

- 1. Positiv-Kontrolle: Die optische Dichte (OD) soll bei $\geq 0,8$ liegen.
- 2. Der Quotient aus der OD der Positiv-Kontrolle und der OD der Cut-Off-Kontrolle soll > 2 sein.
- 3. Negativ-Kontrolle: Die OD soll $< 0,3$ sein.

Berechnung der Testergebnisse

- 1. Berechnen Sie den Mittelwert aus den Duplikaten der OD der Cut-Off-Kontrolle.
- 2. Um die in verschiedenen Tests erzielten Ergebnisse zu normen, wird der Cut-Off-Index (COI) folgendermaßen berechnet:

$$COI = \frac{OD \text{ Serumprobe}}{OD \text{ Mittelwert der Cut-Off-Kontrolle}}$$

Ergebnisinterpretation

Tabelle 1:

COI	Ergebnis	Ergebnisinterpretation
<1,0	Negativ	Kein IgG-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i> nachweisbar
1-1,1	Grenzwertig	Vorhandensein oder Fehlen von IgG-Antikörpern gegen <i>C. trachomatis</i> kann nicht ermittelt werden. Nach 14-21 Tagen sollte eine zweite Serumprobe untersucht werden. Falls diese ebenfalls grenzwertig ist, sollte das Ergebnis als negativ bewertet werden.
>1,1	Positiv	Nachweisbarer IgG-Antikörpertiter gegen <i>C. trachomatis</i>

Tabelle 2: Bedeutung der Ergebnisse bei gleichzeitiger Bestimmung von IgG- und IgA-Antikörpern

Testergebnis		Ergebnisinterpretation
IgG	IgA	
Negativ	Negativ	Negativ (oder unter Sensitivitätsgrenze des Tests)
Positiv	Negativ oder Grenzwertig	Hinweis auf akute oder abgelaufene Infektion.
Grenzwertig	Grenzwertig	Nach 14-21 Tagen sollte eine zweite Serumprobe untersucht werden. Falls diese ebenfalls grenzwertig ist, sollte das Ergebnis als negativ bewertet werden.
Positiv	Positiv	Hinweis auf akute oder chronische Infektion.
Negativ	Positiv	Hinweis auf akute oder chronische Infektion.

Leistungsdaten des Tests

Tabelle 3: Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität und Spezifität von SeroCT™ RT IgG wurden anhand von Serumproben bestimmt, welche mit dem Immunfluoreszenzassay Chlamydia IgG SeroFIA™ (Savyon Diagnostics LTD.) negative oder positive Ergebnisse für *C. trachomatis* ergeben hat. Die Studie wurde mit 50 Serumproben durchgeführt.

SeroFIA™		SeroCT™ RT-IgG	
		Positiv	Negativ
Positiv	21	20	1
Negativ	29	0	29
Gesamt	50	20	30

Sensitivität: $20/21 \times 100 = 95\%$

Spezifität: $29/29 \times 100 = 100\%$

Übereinstimmung insgesamt: $49/50 \times 100 = 98\%$

Genauigkeit

Tabelle 4: Bestimmung des intraserialen Variationskoeffizienten (CV) für SeroCT™ RT IgG

Probe	Anzahl der Wiederholungen	Mittelwert	CV%
Positiv	10	1,140	6,5
Negativ	10	0,058	9,3

Tabelle 5: Bestimmung des interserialen Variationskoeffizienten (CV) für SeroCT™ RT IgG

Probe	Anzahl der Wiederholungen	Mittelwert	CV%
Positiv	10	2,159	3,5
Negativ	10	0,080	7,5

Einschränkungen des Tests

1. Für die Diagnose sollte nicht nur ein einziger serologischer Test herangezogen werden. Alle klinischen Daten und Laborbefunde sollten bei der Diagnosestellung miteinbezogen werden.
2. Serumproben, die zu früh während einer Erstinfektion entnommen wurden, enthalten möglicherweise noch keine nachweisbaren Antikörper. Beim Verdacht auf eine Chlamydieninfektion sollte eine zweite Probe nach 14-21 Tagen entnommen und parallel mit der ersten getestet werden.

Literatur

1. Sarov, I.B., Shemer, A.Y., Manor, E., Zvilich, M., Lunenfeld, E., Piura, B., Chaim, W and Hagay, Z.(1989). Current topics in *Chlamydia trachomatis* Research. In: Serio, M.(Ed). Perspectives in Andrology; Raven Press, New York, **53**: 355-366.
2. Grayston, J.T., Kuo, C.C., Wang, S.P. and Altman J. (1986). The new *Chlamydia psittaci* strain, TWAR, Isolated in acute respiratory tract infections. New Eng. J. Med. **315**: 161-168.
3. Grayston, J. T., Kuo, C.C., Campbell, L.A. and Wang, S.P. (1989). *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for Chlamydia sp. strain TWAR. Int. J. Syst. Bacteriol. **39**:88-90.
4. Fukushi, H., and Hirai, K. (1992). Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for Chlamydia strains derived from ruminants. Int. J. Syst. Bacteriol. **42**:306-308.
5. Stephens, R. S., Tam, M. R., Kuo, C. C. and Nowinski, R.C. (1982). Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis*: antibody specificities and antigen characterization. J. Immunol. **128**:1083-1089.
6. Stephens, R. S., Sanchez-Pescador, R., Wagar, E. A., Inouye, C. and Urdea, M.S. (1987). Diversity of *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein genes. J. Bacteriol. **169**:3879-3885.
7. Yuan, Y., Zhang, Y. X., Watkins, N. G. and Caldwell, H.D. (1989). Nucleotide and Deduced Amino Acid Sequences for the Four Variable Domains of the Major Outer Membrane Proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* Serovars. Infection and Immunity. **57**:1040-1049. Copyright 1989, American Society for Microbiology.
8. Wang S.P., Kuo, C. C., Barnes, R.C., Stephens, R.S. and Grayston, J.T. (1985). Immunotyping of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies. J. Infect Dis. **152**:791-800.
9. Treharne J. D. (1985). The community epidemiology of trachoma. Rev Infect Dis. **7**:760-763.
10. 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.
11. Wang, S.P., Grayston, J.T., Kuo, C.C., Alexander, E.R., and Holmes, K.K. (1977). SeroDiagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection with the microimmunofluorescence test. In: Nongonococcal urethritis and related infection, D. Hobson and K.K. Holmes (Eds), P. American Society for Microbiology, Washington DC. p. 237-248.
12. Richard, L. S., Schachter, J. and Landers, D.V. z(1983). Chlamydial Infections in Obstetrics and Gynecology. Clinical Obstetrics and Gynecology **26**:143
13. Thompson III S. E., and Dretler R. H. (1982). Epidemiology and Treatment of Chlamydial Infections in Pregnant Women and Infants. Review of Infectious Diseases **4**:S747
14. Mardh A., Ripa, T., Svensson, L. and Westrom, S.(1977). *Chlamydia Trachomatis* Infection in Patients with Acute Salpingitis. Chlamydia Trachomatis and Acute Salpingitis. N. Engl. J. Med. No.24 **296**:1377-1379
15. 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.

16. **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
17. **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.
18. **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.
19. **Kaneti, J., et al.,** (1988). IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in acute epididymitis. Europ. Urol. **14**: 323-327.
20. **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.



European Authorized Representative: Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Brussels
Tel: +32.2.732.59.54 Fax: +32.2.732.60.03
E-mail:mail@obelis.net