



## SeroFIA™ *C. trachomatis*

Immunfluoreszenztest für den Nachweis von spezifischen IgG-, IgA- und IgM-Antikörpern gegen *Chlamydia trachomatis* in humanem Serum

### Arbeitsanleitung

Testkit für 105 Bestimmungen  
Katalognummer 580-01

Nur für die *in-vitro*-Diagnostik  
Nur für Fachpersonal  
Bei 2-8 °C aufbewahren. **Nicht einfrieren.**



### Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 77610

Israel

Tel. +972 (8) 8562920

Fax +972 (8) 8523176

E-Mail: [support@savyondiagnosics.com](mailto:support@savyondiagnosics.com).

Vertrieb in Deutschland:

### Hain Lifescience GmbH

Hardwiesenstraße 1

72147 Nehren

Tel. 0 74 73- 94 51- 0

Fax 0 74 73- 94 51- 99

E-Mail: [info@hain-lifescience.de](mailto:info@hain-lifescience.de).

### Verwendungszweck

**SeroFIA™ *C. trachomatis*** ist ein semiquantitativer Immunfluoreszenztest für den differentiellen Nachweis spezifischer IgG-, IgA- und IgM-Antikörper gegen *Chlamydia trachomatis* in humanem Serum.

### Nur für die *in-vitro*-Diagnostik

### Einleitung

Chlamydien sind hoch spezialisierte gramnegative Bakterien. Die Gattung besteht aus den vier Arten *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* (TWAR), *C. psittaci* und *C. pecorum*.

*C. trachomatis* umfasst 15 Serotypen, die zum Teil deckungsgleiche immunogene Epitope enthalten. *C. trachomatis* wird vorwiegend sexuell übertragen und kann mit Krankheitserscheinungen wie unspezifischer nicht-gonorrhöischer Urethritis und Epididymitis bei Männern, Zervicitis, Urethritis und entzündlicher Beckenerkrankung bei Frauen, Reiter-Syndrom bei Patienten mit haploidem HLA-B27 sowie Konjunktivitis und Pneumonie bei Neugeborenen assoziiert sein (2-6).

*C. pneumoniae* ist ein verbreitetes respiratorisches Humanpathogen und liegt ca. 10% der Fälle ambulant

erworbener Pneumonie zugrunde. Der Erreger wurde akuten respiratorischen Erkrankungen, Pneumonie, Asthma, Bronchitis, Pharyngitis, dem *acute chest syndrome* der Sichelzellanämie, koronaren Herzkrankheiten und dem Guillain-Barre-Syndrom zugeordnet (7-9).

*C. psittaci* ist in der Lage, zahlreiche Wirtsspezies von Mollusken bis hin zu Vögeln und Säugetieren zu infizieren; beim Menschen ist es der Erreger einer schweren Pneumonie.

Die Diagnose von Chlamydieninfektionen wird routinemäßig mit serologischen Tests vorgenommen. Diese bieten eine nichtinvasive Möglichkeit zur Erkennung auch chronischer Chlamydieninfektionen (10, 11), bei denen direkte Nachweismethoden meist versagen. Des Weiteren lassen sich unter Umständen aus dem Vorhandensein bestimmter Antikörpertypen Rückschlüsse auf das Krankheitsstadium ziehen.

Eine primäre Chlamydieninfektion ist dadurch charakterisiert, dass nach 2-4 Wochen vorwiegend IgM- und nach 6-8 Wochen IgG- und IgA-Antikörper nachweisbar sind. Nach einer akuten Infektion mit *C. pneumoniae* sind nach 2-6 Monaten meist keine IgM-Antikörper mehr nachweisbar (12). Der Titer der IgG-Antikörper steigt an und fällt meist langsam ab, während IgA-Antikörper häufig schon nach kurzer Zeit nicht mehr nachweisbar sind (13).

Chlamydien-Reinfektionen sind durch das Fehlen einer IgM-Antwort, aber sofortigen IgG- und IgA-Reaktion gekennzeichnet (9). Es wurde nachgewiesen, dass IgA-Antikörper einen zuverlässigen immunologischen Marker für primäre und chronische Infektionen sowie für Reinfektionen darstellen. Die Konzentration dieser Antikörper sinkt nach der Behandlung und Heilung einer Chlamydieninfektion meist schnell wieder auf den Wert vor der Infektion ab (1-6, 10, 11).

Bleibt der IgA-Antikörpertiter erhöht, wird dies allgemein als Symptom einer chronischen Infektion betrachtet (13). In einer Studie an älteren Patienten mit Infektionen der Atemwege wurde geschätzt, dass ohne IgA-Bestimmung ein Fünftel der *C. pneumoniae*-Infektionen nicht diagnostiziert worden wäre (14). IgG-Antikörper bleiben lange erhalten, und ihr Titer nimmt nur sehr langsam ab. Daher sagt ein Nachweis von IgG-Antikörpern lediglich aus, dass ein Patient zu einer unbekannt Zeit eine Chlamydieninfektion hatte. Eine Vervierfachung des IgG-Wertes oder hohe IgG-Antikörpertiter weisen auf eine mögliche andauernde chronische oder systemische Infektion hin.

Der **SeroFIA™ *C. trachomatis*** ist ein Mikro-Immunfluoreszenztest, der auf dem Prinzip der Mikroimmunfluoreszenz (MIF) beruht. Der **SeroFIA™ *C. trachomatis*** verwendet aufgereinigte Elementarkörperchen von *C. trachomatis* (L2) als Antigen.

### Testprinzip

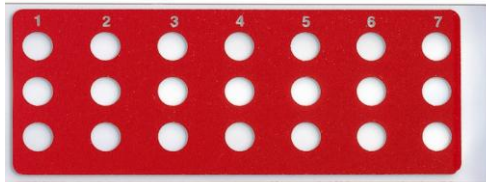
- Die Kavitäten der **SeroFIA™ *C. trachomatis***-Objektträger sind mit gereinigten Elementarkörperchen (Ek) von *C. trachomatis* beschichtet.
- Verdünnte Patientenserum werden für 30 Minuten bei 37 °C mit den Antigenen inkubiert.
- Ungebundene Serumbestandteile werden durch Waschen entfernt.
- Fluorescein-konjugiertes Anti-Human-IgG, -IgA oder -IgM wird zugegeben und für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert.
- Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt.
- Die Objektträger werden luftgetrocknet. 3 Tropfen Einbettungsmedium werden aufgetropft und mit einem Deckglas bedeckt.

- Die Objektträger werden unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht. Bei einer positiven Reaktion erscheinen die Ek leuchtend apfelgrün vor dunklem Hintergrund.
- Die qualitative Bestimmung erfolgt durch einfache Verdünnung der Seren. Semiquantitative Ergebnisse werden durch Endpunkttitration ermittelt.

### Gelieferte Materialien

**1. Reaktions-Objektträger** (3x7 Auftragestellen pro Objektträger): Die Objektträger sind mit *C. trachomatis*-Antigen beschichtet. Jeder Objektträger ist einzeln in einem Aluminiumbeutel mit Trockenmittel verpackt.

**5 Stück**



**2. Waschpufferkonzentrat (20-fach):** PBS-Tween-Puffer, (pH 7,4-7,6) mit NaCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und Tween 20.  
**1 Flasche, 100 ml**

**3. Serumverdünner:** PBS-Puffer mit Gelatine, Rinderserumalbumin, MgCl<sub>2</sub> und < 0,1% Natriumazid  
**1 Flasche, 80 ml**

**4. Negativkontrolle:** Humanserum ohne IgG-, IgA- und IgM-Antikörper gegen *C. psittaci*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*. Enthält < 0,1% Natriumazid. Gebrauchsfertig.  
**1 Fläschchen, 0,5 ml**

**5. IgG-Positivkontrolle:** Humanserum mit IgG-Antikörpern gegen *C. trachomatis*. Enthält < 0,1% Natriumazid. Gebrauchsfertig.  
**1 Fläschchen, 0,2 ml**

**6. IgA-Positivkontrolle:** Humanserum mit IgA-Antikörpern gegen *C. trachomatis*. Enthält < 0,1% Natriumazid. Gebrauchsfertig.  
**1 Fläschchen, 0,2 ml**

**7. IgM-Positivkontrolle:** Humanserum mit IgM-Antikörpern gegen *C. trachomatis*. Enthält < 0,1% Natriumazid. Gebrauchsfertig.  
**1 Fläschchen, 0,2 ml**

**8. IgG-FITC-Konjugat:** Fluorescein-markiertes Kaninchen-Anti-Human-IgG ( $\gamma$ -Ketten-spezifisch). Gebrauchsfertig.  
**1 Fläschchen, 3,3 ml**

**9. IgA-FITC-Konjugat:** Fluorescein-markiertes Kaninchen-Anti-Human-IgA ( $\alpha$ -Ketten-spezifisch). Gebrauchsfertig.  
**1 Fläschchen, 3,3 ml**

**10. IgM-FITC-Konjugat:** Fluorescein-markiertes Kaninchen-Anti-Human-IgM ( $\mu$ -Ketten-spezifisch). Gebrauchsfertig.  
**1 Fläschchen, 3,3 ml**

**11. IgG-Inaktivierungsreagenz:** Anti-Human-IgG mit < 0,1% Natriumazid. **(Nur für IgM-Testung)**  
**1 Flasche, 4 ml**

**12. Einbettungsmedium:** Enthält < 0,1% Natriumazid.  
**1 Tropfflasche, 1,5 ml**

**13. Deckgläser:** **1 Packung**

**14. Bedienungsanleitung:** **1**

### Zusätzlich erforderliche Materialien (nicht im Lieferumfang enthalten)

1. Saubere Mikrotiterplatten oder Reaktionsgefäße für die Verdünnung von Patientenseren
2. Laborzentrifuge

3. Mikropipetten mit variablem Volumen (Volumenbereiche 5-50, 50-200, 200-1000  $\mu$ l) und Einmalspitzen
4. Messzylinder (1 Liter)
5. Vortex-Mischer
6. 37 °C-Wasserbad mit Deckel oder feuchte Kammer in einem 37 °C-Inkubator
7. Kunststoffschalen für die Inkubation der Objektträger.
8. Doppelt destilliertes oder deionisiertes Wasser für die Verdünnung des Waschpufferkonzentrats
9. Spritzflasche
10. Objektträgergestell und Färbeschale
11. Laborwecker
12. Fluoreszenzmikroskop, Vergrößerung 400- und 1000-fach, mit Filtern für FITC-Fluoreszenz

### Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

#### Nur für die *in-vitro*-Diagnostik

1. Menschliche Seren, die in diesem Testkit enthalten sind, wurden nach FDA, CE-genehmigten Methoden geprüft und als negativ für HBsAg-, HCV- und HIV-1/2-Antikörper befunden. Dennoch ist bei Produkten menschlichen Ursprungs mit keinem der derzeit verfügbaren analytischen Verfahren mit letzter Sicherheit auszuschließen, dass diese Produkte Krankheiten übertragen können. Daher müssen alle in diesem Testkit enthaltenen Reagenzien humanen Ursprungs grundsätzlich als potenziell infektiös angesehen und entsprechend behandelt und entsorgt werden.
2. Die zur Beschichtung der Objektträger verwendeten Chlamydienantigene wurden inaktiviert und enthalten keine nachweisbaren lebenden Organismen. Da allerdings keine bekannte Methode mit letzter Sicherheit garantieren kann, dass aus Krankheitserregern hergestellte Produkte keine Infektionen übertragen, müssen die Objektträger grundsätzlich als potenziell infektiös angesehen und entsprechend behandelt und entsorgt werden
3. Natriumazid bildet mit Schwermetallen explosive Verbindungen. Daher auf keinen Fall unverdünnt in den Ausguss geben bzw. mit reichlich Wasser nachspülen.
4. Nicht mit dem Mund pipettieren.
5. Hautkontakt mit den im Kit enthaltenen Reagenzien vermeiden.
6. Bei der Handhabung der Seren und bei der Testdurchführung Einmalhandschuhe tragen. Hände nach dem Ausziehen der Handschuhe sorgfältig waschen.
7. Alle für die Testdurchführung verwendeten Materialien, Gerätschaften, Flüssigkeiten und Chemikalien, die in direkten Kontakt mit humanem Serum gekommen sind, sind als potenziell infektiös zu betrachten. Nach Gebrauch und vor Entsorgung oder Reinigung müssen sie sterilisiert oder inaktiviert werden, entweder durch Autoklavieren (mindestens 1 Std. bei 121 °C) oder durch Zugabe von Natriumhypochlorit in einer Endkonzentration von 5% für 30 Minuten.
8. Das FITC-Konjugat enthält den Farbstoff Evans-Blau. Evans-Blau ist potenziell krebserregend sowie toxisch bei Inhalation, Hautkontakt und Einnahme.
9. Das Einbettungsmedium enthält ätzende Chemikalien. Nicht inhalieren, Hautkontakt vermeiden. Bei versehentlichem Kontakt mit Haut oder Augen unverzüglich mit viel Wasser abwaschen.

## Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Alle gelieferten Testmaterialien müssen bei 2-8 °C gelagert werden. Bei Lagerung bei 2-8 °C sind die Reagenzien bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Kitbestandteile nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden. Die Kitbestandteile können ohne schädliche Wirkung wenige Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden.

**Reagenzien keiner starken Lichteinstrahlung aussetzen. Reagenzien nicht einfrieren.**

## Probengewinnung und -lagerung

### Probengewinnung

Aus aseptisch entnommenen Blutproben wird Serum nach Standardmethoden gewonnen. Keine hitzeinaktivierten Seren verwenden. Die Verwendung von lipämischen, trüben oder kontaminierten Seren wird nicht empfohlen. Teilchen oder Niederschläge in den Seren können die Ergebnisse verfälschen; Proben vor Testdurchführung durch Zentrifugation oder Filtration reinigen.

### Probenlagerung

Proben bei 2-8 °C lagern und innerhalb von 7 Tagen untersuchen. Für die Lagerung wird die Zugabe von 0,1% Natriumazid empfohlen. Zur längeren Aufbewahrung in Aliquots aufteilen und unter -20 °C lagern. Die Proben nicht wiederholt auftauen und einfrieren.

## Validität des Tests

Die Testergebnisse sind nur dann auswertbar, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind. Andernfalls muss der Test wiederholt werden.

1. **Positivkontrolle:** Mittlere bis intensive apfelgrüne Fluoreszenz der Elementarkörperchen von *C. trachomatis*.
2. **Negativkontrolle:** Keine oder kaum sichtbare Fluoreszenz der Elementarkörperchen von *C. trachomatis*.

## Interpretation und Aussagekraft der Ergebnisse

Um eine korrekte Interpretation der Ergebnisse zu gewährleisten, wird empfohlen, zuerst die Kontrollauftragstellungen (Positiv- und Negativkontrolle) zu untersuchen. Die Fluoreszenz der Patientenproben wird wie folgt interpretiert und bewertet:

- +** Mittlere bis intensive, deutlich abgegrenzte oder diffuse apfelgrüne Fluoreszenz der Elementarkörperchen.
- +/-** Schwach sichtbare, aber eindeutige Fluoreszenz der Elementarkörperchen. Verdünnungen mit dieser Fluoreszenzintensität sind bei Titrierungen als Endpunkt zu betrachten. Der Endpunkttiter eines Serums ist die letzte Verdünnung mit eindeutig wahrnehmbarer Fluoreszenz. Die nächstschwächere Verdünnung ist mit der Negativkontrolle vergleichbar.
- Keine Fluoreszenz oder schwache Hintergrundfluoreszenz ohne erkennbare Chlamydienmorphologie.

## Testablauf für IgG

Für Screeningzwecke werden die Serumproben im Verhältnis 1:64 mit Serumverdünner verdünnt, indem zu 10 µl Probe 630 µl Serumverdünner gegeben werden. Für die Bestimmung von Endpunkttitern wird ausgehend von der Startverdünnung 1:64 eine Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:2 mit Serumverdünner angefertigt.

### **Hinweis:**

Bei jedem Testansatz ist das Mitführen der Positiv- und Negativkontrolle erforderlich.

**Die Positivkontrolle kann bei einer 1:64-Verdünnung auch als Endpunkttiter-Kontrolle dienen.**

1. Alle Bestandteile des Kits und alle Patientenproben vor Testbeginn auf Raumtemperatur erwärmen.
2. Waschpufferkonzentrat durch Zugabe von doppelt destilliertem oder deionisiertem Wasser im Verhältnis 1:20 verdünnen (50 ml Waschpufferkonzentrat + 950 ml Wasser). Der verdünnte Puffer kann bei 2-8 °C bis zu 2 Wochen gelagert werden.
3. 10 µl Kontrolllösung bzw. Patientenprobe in die dafür vorgesehenen Kavitäten pipettieren.
4. Objektträger in einer feuchten Kammer für 30 Minuten bei 37 °C inkubieren.
5. Objektträger aus der feuchten Kammer nehmen und einzeln mit verdünntem Waschpuffer abspülen (Spritzflasche). Objektträger durch 10-minütiges Eintauchen in eine mit verdünntem Waschpuffer gefüllte Färbeschale waschen. Objektträger anschließend in doppelt destilliertes Wasser eintauchen und danach an der Luft trocknen lassen.
6. In jede Kavität 10 µl FITC-Konjugat pipettieren.
7. Für 30 Minuten bei 37 °C inkubieren.
8. Objektträger wie bei Schritt 5 beschrieben abspülen, waschen und trocknen lassen.
9. 3 Tropfen Einbettungsmedium in die Mitte jedes Objektträgers tropfen und Objektträger mit Deckglas bedecken. Gegebenenfalls Luftblasen durch leichten Druck auf das Deckglas entfernen.
10. Proben bei 400- oder 1000-facher Vergrößerung unter dem Fluoreszenzmikroskop auswerten. Die Ergebnisse sind am zuverlässigsten, wenn die Objektträger am Tag der Testdurchführung untersucht werden. Die Objektträger können bei 2-8 °C im Dunkeln maximal 3 Tage aufbewahrt werden.

Fluoreszenz bei einem Titer von 1:64	Interpretation
<b>+</b>	<b>Vorhandensein spezifischer IgG-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i>.</b> Um zu erkennen, ob eine Infektion aktuell ist oder länger zurückliegt, muss eine Endpunkttitration durchgeführt werden <sup>1)</sup> .
<b>+/-</b>	<b>Vorhandensein spezifischer IgG-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i> nicht eindeutig.</b> Test nach 2-4 Wochen mit einer neuen Probe wiederholen <sup>2)</sup> .
<b>-</b>	<b>Keine IgG-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i> nachweisbar.</b>

4. Objektträger in einer feuchten Kammer für 30 Minuten bei 37 °C inkubieren.
5. Objektträger aus der feuchten Kammer nehmen und einzeln mit verdünntem Waschpuffer abspülen (Spritzflasche). Objektträger durch Eintauchen (10 Minuten) in eine mit verdünntem Waschpuffer gefüllte Färbeschale waschen. Objektträger anschließend in doppelt destilliertes Wasser eintauchen und danach an der Luft trocknen lassen.
6. In jede Kavität 10 µl FITC-Konjugat pipettieren.
7. Für 30 Minuten bei 37 °C inkubieren.
8. Objektträger wie bei Schritt 5 beschrieben abspülen, waschen und trocknen lassen.
9. 3 Tropfen Einbettungsflüssigkeit in die Mitte jedes Objektträgers tropfen und Objektträger mit Deckglas bedecken. Gegebenenfalls Luftblasen durch leichten Druck auf das Deckglas entfernen.
10. Proben bei 400- oder 1000-facher Vergrößerung unter dem Fluoreszenzmikroskop auswerten. Die Ergebnisse sind am zuverlässigsten, wenn die Objektträger am Tag der Testdurchführung untersucht werden. Die Objektträger können bei 2-8 °C im Dunkeln maximal 3 Tage aufbewahrt werden.

<sup>1)</sup> Bei einem Titer  $\geq 1:64$  liegt eine aktuelle oder erst kürzlich stattgefunden Infektion mit *C. trachomatis* vor.

<sup>2)</sup> Bei einer Testwiederholung muss der Test für die neue Probe und die alte Probe gemeinsam im selben Testansatz durchgeführt werden. Wenn das grenzwertige Ergebnis bestätigt wurde, ist das Ergebnis als negativ zu werten.

**Hinweis:** In seltenen Fällen kann deutliche und dichte Fluoreszenz von Partikeln auftreten, die kleiner als die Elementarkörperchen sind. Diese Fluoreszenz kann auf Lipopolysaccharide zurückzuführen sein. In diesem Fall müssen entweder zusätzlich IgA- und IgM-Antikörper bestimmt werden, oder der Test muss nach 2-3 Wochen mit einer neuen Probe wiederholt werden. Wenn das Ergebnis bei der Testwiederholung erneut auftritt, während die Ergebnisse für IgM und IgA negativ sind, ist das Ergebnis als negativ zu werten.

#### Testablauf für IgA

Für Screeningzwecke werden die Serumproben im Verhältnis 1:32 mit Serumverdünner verdünnt, indem zu 10 µl Probe 310 µl Serumverdünner gegeben werden. Für die Bestimmung von Endpunkttitern wird ausgehend von der Startverdünnung 1:32 eine Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:2 mit Serumverdünner angefertigt.

#### **Hinweis:**

Bei jedem Testansatz ist das Mitführen der Positiv- und Negativkontrolle erforderlich.

**Die Positivkontrolle kann bei einer 1:128-Verdünnung auch als Endpunkttiter-Kontrolle dienen.**

1. Alle Bestandteile des Kits und alle Patientenproben vor Testbeginn auf Raumtemperatur erwärmen.
2. Waschpufferkonzentrat durch Zugabe von doppelt destilliertem oder deionisiertem Wasser im Verhältnis 1:20 verdünnen (50 ml Waschpufferkonzentrat + 950 ml Wasser). Der verdünnte Puffer kann bei 2-8 °C bis zu 2 Wochen gelagert werden.
3. 10 µl Kontrolllösung bzw. Patientenprobe in die dafür vorgesehenen Kavitäten pipettieren.

Fluoreszenz bei einem Titer von 1:32	Interpretation
<b>+</b>	<b>Vorhandensein spezifischer IgA-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i>.</b> Ein Titer von $\geq 1:32$ ist ein starker Hinweis auf das Vorhandensein einer Infektion.
<b>+/-</b>	<b>Vorhandensein spezifischer IgA-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i> nicht eindeutig.</b> Test nach 2-4 Wochen mit einer neuen Probe wiederholen <sup>1)</sup> .
<b>-</b>	<b>Keine IgA-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i> nachweisbar.</b>

<sup>1)</sup> Bei einer Testwiederholung muss der Test für die neue Probe und die alte Probe gemeinsam im selben Testansatz durchgeführt werden. Wenn das grenzwertige Ergebnis bestätigt wurde, ist das Ergebnis als negativ zu werten.

**Hinweis:** In seltenen Fällen kann deutliche und dichte Fluoreszenz von Partikeln auftreten, die kleiner als die Elementarkörperchen sind. Diese Fluoreszenz kann auf Lipopolysaccharide zurückzuführen sein. In diesem Fall müssen entweder zusätzlich IgG- und IgM-Antikörper bestimmt werden, oder der Test muss nach 2-3 Wochen mit einer neuen Probe wiederholt werden. Wenn das Ergebnis bei der Testwiederholung erneut auftritt, während die Ergebnisse für IgM und IgG negativ sind, ist das Ergebnis als negativ zu werten.

### Testablauf für IgM

1. Serumproben im Verhältnis 1:10 (5 µl Serum + 45 µl IgG-Inaktivierungsreagenz) verdünnen. Vorsichtig auf Vortex-Mischer durchmischen.
2. Jeweils 50 µl dieser Proben mit 50 µl Serumverdünner verdünnen, sodass die Proben in einem Verhältnis von 1:20 verdünnt sind.

Für die Bestimmung von Endpunkttitern wird ausgehend von der Startverdünnung 1:20 eine Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:2 mit Serumverdünner angefertigt.

#### Hinweis:

Bei jedem Testansatz ist das Mitführen der Positiv- und Negativkontrolle erforderlich.

**Die Positivkontrolle kann bei einer 1:64-Verdünnung auch als Endpunkttiter-Kontrolle dienen.**

1. Alle Bestandteile des Kits und alle Patientenproben vor Testbeginn auf Raumtemperatur erwärmen.
2. Waschpufferkonzentrat durch Zugabe von doppelt destilliertem oder deionisiertem Wasser im Verhältnis 1:20 verdünnen (50 ml Waschpufferkonzentrat + 950 ml Wasser) verdünnen. Der verdünnte Puffer kann bei 2-8 °C bis zu 2 Wochen gelagert werden.
3. 10 µl Kontrolllösung bzw. Patientenprobe in die dafür vorgesehenen Kavitäten pipettieren.
4. Objektträger in einer feuchten Kammer für 30 Minuten bei 37 °C inkubieren.
5. Objektträger aus der feuchten Kammer nehmen und einzeln mit verdünntem Waschpuffer abspülen (Spritzflasche). Objektträger durch 10-minütiges Eintauchen in eine mit verdünntem Waschpuffer gefüllte Färbeschale waschen. Objektträger anschließend in doppelt destilliertes Wasser eintauchen und danach an der Luft trocknen lassen.
6. In jede Kavität 10 µl FITC-Konjugat pipettieren.
7. Für 30 Minuten bei 37 °C inkubieren.
8. Objektträger wie bei Schritt 5 beschrieben abspülen und waschen.
9. 3 Tropfen Einbettungsmedium in die Mitte jedes Objektträgers tropfen und Objektträger mit Deckglas bedecken. Gegebenenfalls Luftblasen durch leichten Druck auf das Deckglas entfernen.
10. Proben bei 400- oder 1000-facher Vergrößerung unter dem Fluoreszenzmikroskop auswerten. Die Ergebnisse sind am zuverlässigsten, wenn die Objektträger am Tag der Testdurchführung untersucht werden. Die Objektträger können bei 2-8 °C im Dunkeln maximal 3 Tage aufbewahrt werden.

Fluoreszenz bei einem Titer von 1:20	Interpretation
<b>+</b>	<b>Vorhandensein spezifischer IgM-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i>.</b> Ein Titer von $\geq 1:20$ ist ein starker Hinweis auf das Vorhandensein einer Infektion.
<b>+/-</b>	<b>Vorhandensein spezifischer IgM-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i> nicht eindeutig.</b> Test nach 2-4 Wochen mit einer neuen Probe wiederholen <sup>1)</sup> .
<b>-</b>	<b>Keine IgM-Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i> nachweisbar.</b>

- <sup>1)</sup> Bei einer Testwiederholung muss der Test für die neue Probe und die alte Probe gemeinsam im selben Testansatz durchgeführt werden. Wenn das grenzwertige Ergebnis bestätigt wurde, ist das Ergebnis als negativ zu werten.

#### Bedeutung der IgM-Endpunkttiter

Für semiquantitative Ergebnisse muss eine Endpunkttitration durchgeführt werden.

**Um ein möglichst aussagekräftiges Antikörperprofil zu erhalten, ist es empfehlenswert, neben IgM auch IgG und IgA zu untersuchen.**

**Interpretation der Ergebnisse auf Basis der Gesamtdaten von IgG-, IgA- und IgM-Antikörpern.**

Vorliegen von <i>C. trachomatis</i> -Antikörpern			Interpretation der Ergebnisse
IgM	IgG	IgA	
Negativ	Negativ	Negativ	Kein Hinweis auf <i>C. trachomatis</i> -Infektion
Positiv	Negativ oder Positiv	Negativ oder Positiv	Hinweis auf aktuelle <i>C. trachomatis</i> -Infektion
Negativ	Positiv	Negativ	Hinweis auf aktuelle oder frühere <i>C. trachomatis</i> -Infektion
Negativ	Positiv oder Negativ	Positiv	Hinweis auf aktuelle oder chronische <i>C. trachomatis</i> -Infektion

#### Einschränkungen des Tests

1. Serologische Tests sollten nicht ohne Unterstützung durch andere klinische und/oder Labordaten für eine endgültige Diagnose herangezogen werden.
2. Proben, die während einer primären Infektion zu früh entnommen wurden, können unter Umständen noch keine nachweisbaren Antikörpertiter enthalten. Wenn eine Chlamydieninfektion vermutet wird, sollte nach 2-3 Wochen eine neue Probe entnommen werden, die zusammen mit der ersten Probe getestet wird.

3. Die Fluoreszenzintensität und die Ermittlung der Endpunkttiter kann von der Optik des verwendeten Mikroskops und der verwendeten Lichtquelle abhängen.

### Leistungsdaten

Vorliegende Daten wurden von einem unabhängigen Studienzentrum an Patienten mit Verdacht auf eine Infektion mit *C. trachomatis* erhoben.

#### Vergleich der *C. trachomatis*-Ergebnisse für IgG bei SeroFIA™ und Mikroimmunfluoreszenz als Referenz

MIF \ SeroFIA™	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	47	2	49
Negativ	5	46	51
Gesamt	52	48	100

Sensitivität:  $47/52 \times 100 = 90,3\%$

Spezifität:  $46/48 \times 100 = 95,8\%$

Übereinstimmung gesamt:  $93/100 \times 100 = 93\%$

#### Vergleich der *C. trachomatis*-Ergebnisse für IgA bei SeroFIA™ und Mikroimmunfluoreszenz als Referenz

MIF \ SeroFIA™	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	11	6	17
Negativ	2	52	54
Gesamt	13	58	71

Sensitivität:  $11/13 \times 100 = 84,6\%$

Spezifität:  $52/58 \times 100 = 89,7\%$

Übereinstimmung gesamt:  $63/71 \times 100 = 88,7\%$

#### Vergleich der *C. trachomatis*-Ergebnisse für IgM bei SeroFIA™ und Mikroimmunfluoreszenz als Referenz

MIF \ SeroFIA™	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	4	0	4
Negativ	1	26	27
Gesamt	5	26	31

Sensitivität:  $4/5 \times 100 = 80\%$

Spezifität:  $26/26 \times 100 = 100\%$

Übereinstimmung gesamt:  $30/31 \times 100 = 96,8\%$

### Literatur

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 pneumonitis* 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](mailto:mail@obelis.net)