

IVD

Gebrauchsanweisung (Deutsch)

1 Zweckbestimmung

Der *recomLine Chlamydia IgG, IgA [IgM]* ist ein qualitativer In-vitro-Test zum Nachweis von IgG-, IgA- bzw. IgM-Antikörpern gegen *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* und *Chlamydia psittaci* in humanem Serum oder Plasma.

2 Anwendungsbereich

Der *recomLine Chlamydia IgG, IgA [IgM]* ist ein Line-Immunoassay. Das Testprinzip erlaubt durch das separate Auflinieren der Einzelantigene im Unterschied zu ELISAs die Identifizierung von spezifischen Antikörpern gegen die einzelnen Antigene von *Chlamydia trachomatis* (MOMP, OMP2, TARP, CPAF, HSP60), *Chlamydia pneumoniae* (MOMP, OMP2, TARP, CPAF, YwbM) und *Chlamydia psittaci* (MOMP, OMP2, TARP, CPAF). Der *recomLine Chlamydia IgG, IgA [IgM]* ist ein Bestätigungstest und kann zur Abklärung von unklaren Screening-Ergebnissen eingesetzt werden.

3 Testprinzip

Hochgereinigte rekombinante Chlamydia-Antigene sind auf Nitrozellulosemembran-Teststreifen fixiert.

1. Die Teststreifen werden mit der verdünnten Serum- oder Plasma- probe inkubiert, wobei sich spezifische Antikörper an die Erreger- Antigene auf den Teststreifen anlagern.
2. Nicht gebundene Antikörper werden anschließend gewaschen.
3. Die Streifen werden in einem zweiten Schritt mit anti-human Im- munglobulin-Antikörpern (IgG, IgA bzw. IgM) inkubiert, die mit Meerrettich- Peroxidase gekoppelt sind.
4. Nicht gebundene Konjugat-Antikörper werden anschließend weg- gewaschen.
5. Mit einer durch die Peroxidase katalysierten Färbereaktion werden spezifisch gebundene Antikörper nachgewiesen. Falls eine Anti- gen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat, erscheint an der ent- sprechenden Stelle eine dunkle Bande auf dem Streifen.

Am oberen Ende der Teststreifen befinden sich Kontrollbanden:

- a) Die Reaktionskontrolle unter der Streifennummer, die bei jeder Serum/Plasma-Probe eine Reaktion zeigen muss.
- b) Die Konjugatkontrollen (IgG, IgA, IgM) dienen zur Kontrolle der nachgewiesenen Antikörperklasse. Wird z.B. der Teststreifen zum Nachweis von IgG-Antikörpern benutzt, zeigt die Konjugatkontroll- bande IgG eine deutliche Bande.
- c) „Cutoff-Kontrolle“: Die Intensität dieser Bande erlaubt die Beurtei- lung der Reaktivität der einzelnen Antigen-Banden (siehe 9.2 Auswertung).

4 Reagenzien

4.1 Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 20 Bestimmungen. Jeder Reagenziensatz enthält:

| | |
|-----------------------|---|
| WASHPUF A 10 X | 100 ml Waschpuffer A (zehnfach konzentriert) Enthält Phosphat-Puffer, NaCl, KCl, Detergenz, Kon- servierungsmittel: MIT (0,1%) und Oxypiron (0,2%) |
| SUBS TMB | 40 ml Chromogenes Substrat Tetramethylbenzidin (TMB, gebrauchsfertig) |
| MILKPOW | 5 g Magermilchpulver |
| INSTRU | 1 Gebrauchsanweisung |
| EVALFORM | 1 Auswertebogen |

4.1.1 recomLine Chlamydia IgG

Jeder Reagenziensatz enthält zusätzlich zu den unter Punkt 4.1 aufge- führten Komponenten:

| | |
|-----------------|--|
| TESTSTR | 2 Röhrchen mit je 10 durchnummerierten Teststreifen |
| CONJ IgG | 500 µl Anti-human IgG-Konjugat (hundertfach kon- zentriert, Grüne Verschlusskappe) Aus Kaninchen, enthält NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%) und Chlorazetamid (<0,1%) |

4.1.2 recomLine Chlamydia IgA [IgM]

Jeder Reagenziensatz enthält zusätzlich zu den unter Punkt 4.1 aufge- führten Komponenten:

| | |
|-----------------|---|
| TESTSTR | 2 Röhrchen mit je 10 durchnummerierten Teststreifen |
| CONJ IgA | 500 µl Anti-human IgA-Konjugat (hundertfach kon- zentriert, Farblose Verschlusskappe) Aus Kaninchen, enthält NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%) und Chlorazetamid (<0,1%) |

Zum Nachweis von IgM-Antikörpern kann zusätzlich zum *recomLine Chlamydia IgA [IgM]* bestellt werden:

| | |
|-----------------|---|
| CONJ IgM | 500 µl Anti-human IgM-Konjugat (hundertfach kon- zentriert, Lila Verschlusskappe) Aus Kaninchen, enthält NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%) und Chlorazetamid (<0,1%) |
|-----------------|---|

4.2 Zusätzlich benötigte Reagenzien, Materialien und Geräte

- Inkubationsschalen (sind bei Bedarf von MIKROGEN zu beziehen)
- Deionisiertes Wasser (hohe Qualität)
- Plastikpinzette
- Horizontalschüttler
- Vortex-Mixer oder andere Rotatoren
- Vakuumpumpe oder entsprechendes Gerät
- Messzylinder, 50 ml und 1000 ml
- Mikropipetten mit Einwegspitzen, 20 µl und 1000 µl
- 10 ml Pipette oder Dispenser
- Timer
- Saugfähige Papiertücher
- Einweg-Schutzhandschuhe
- Abfallbehälter für Biogefahrstoffe

5 Haltbarkeitsdauer und Handhabung

- ♣ Reagenzien vor und nach Gebrauch bei +2°C - +8°C lagern, **nicht einfrieren**.
- ♣ Vor Testbeginn alle Bestandteile für mindestens 30 Minuten auf Raumtemperatur (+18°C - +25°C) temperieren. Die Testdurchfüh- rung erfolgt bei Raumtemperatur.
- ♣ Waschpuffer, Milchpulver, Verdünnungspuffer, Konjugate und TMB können zwischen verschiedenen *recomLine* und/oder *recomBlot* Testsystemen ausgetauscht werden, wenn diese Kom- ponenten das gleiche Symbol tragen. Dabei ist die Haltbarkeit die- ser Komponenten zu beachten.
- ♣ Vor Gebrauch die konzentrierten Reagenzien und Patientenseren gut durchmischen. Schaumbildung vermeiden.
- ♣ Röhrchen mit den Teststreifen erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen, um Kondenswasserbildung zu vermeiden. Nicht benötigte Streifen verbleiben im Röhrchen und werden weiterhin bei +2°C - +8°C gelagert (Röhrchen wieder gut verschließen, Teststreifen dürfen vor Versuchsbeginn nicht feucht werden!).
- ♣ Die Streifen sind mit der fortlaufenden Nummer sowie dem Test- kürzel gekennzeichnet.
- ♣ Die Packungen tragen ein Verfallsdatum, nach dessen Erreichen keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden kann.
- ♣ Kitkomponenten während der gesamten Testdurchführung vor direktem Sonnenlicht schützen. Insbesondere die Substratlösung (TMB) ist lichtempfindlich.
- ♣ Der Test ist nur von geschultem und autorisiertem Fachpersonal durchzuführen.
- ♣ Bei substanziellen Änderungen am Produkt bzw. der Anwen- dungsvorschrift durch den Anwender kann die Anwendung außer- halb der von MIKROGEN vorgegebenen Zweckbestimmung lie- gen.
- ♣ Kreuzkontamination der Patientenproben oder Konjugate kann zu falschen Testergebnissen führen. Fügen Sie Patientenproben, Teststreifen und Konjugat-Lösung sorgfältig zu. Achten Sie darauf, dass Inkubationslösungen nicht in andere Vertiefungen ver- schleppt werden. Flüssigkeiten vorsichtig entfernen.
- ♣ Die Streifen müssen während der gesamten Prozedur vollständig benetzt und untergetaucht sein.
- ♣ Automatisierung ist möglich, nähere Informationen erhalten Sie von MIKROGEN.

6 Warnungen und Sicherheitsvorkehrungen

- ☞ Nur für die In-vitro-Diagnostik verwenden.
- ☞ Sämtliche Blutprodukte müssen als potenziell infektiös behandelt werden.
- ☞ Die Teststreifen wurden mit inaktivierten Ganzzelllysaten und/oder rekombinant hergestellten bakteriellen, viralen oder parasitären Antigenen produziert.
- ☞ Nach der Zugabe von Patienten- oder Kontrollmaterial muss der Streifen als potenziell infektiös betrachtet und entsprechend als solches behandelt werden.
- ☞ Während des gesamten Testverfahrens müssen geeignete Einweg-Handschuhe getragen werden.
- ☞ Die Reagenzien enthalten die antimikrobiellen Mittel und Konservierungsstoffe Natriumazid (NaN₃), MIT (Methylisothiazolon), Oxypyron, Chlorazetamid und Wasserstoffperoxid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden. Natriumazid kann bei Kontakt mit Schwermetallen wie Kupfer und Blei explosive Azide formen.
- ☞ Alle abgesaugten Flüssigkeiten müssen gesammelt werden. Alle Sammelbehälter müssen geeignete Desinfektionsmittel zur Inaktivierung humanpathogener Erreger enthalten. Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potenziell infektiösen Proben in Berührung kommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder entsprechend den Hygienevorschriften entsorgt werden. Die Konzentrationsangaben und Inkubationszeiten der Hersteller müssen beachtet werden.
- ☞ Inkubationsschalen nur einmal verwenden.
- ☞ Streifen vorsichtig mit einer Plastikpinzette handhaben.
- ☞ Ersetzen oder mischen Sie die Reagenzien nicht mit Reagenzien anderer Hersteller.
- ☞ Vor Durchführung des Tests die gesamte Gebrauchsanweisung durchlesen und sorgfältig befolgen. Abweichungen vom in der Gebrauchsanweisung aufgeführten Testprotokoll können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

7 Probenentnahme und Reagenzien-Vorbereitung

7.1 Probenmaterial

Das Probenmaterial kann Serum oder Plasma (EDTA, Citrat, Heparin, CPD) sein, das nach Entnahme möglichst rasch vom Blutkuchen getrennt werden muss, um eine Hämolyse zu vermeiden. Eine mikrobielle Kontamination der Probe ist unbedingt zu vermeiden. Unlösliche Stoffe sind vor der Inkubation aus der Probe zu entfernen. Die Verwendung von hitzeinaktivierten, ikterischen, hämolytischen, lipämischen oder trüben Proben wird nicht empfohlen.

Achtung!

Sollen die Bestimmungen nicht sofort erfolgen, kann das Probenmaterial bis zu 2 Wochen bei +2°C - +8°C aufbewahrt werden. Eine längere Lagerung der Proben ist durch Aufbewahrung bei -20°C oder tiefer möglich. Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben wird wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate nicht empfohlen. Mehr als 3 Tiefgefrier- und Auftau-Zyklen sollten vermieden werden.

7.2 Herstellung der Lösungen

7.2.1 Herstellung des gebrauchsfertigen Waschpuffers A

Dieser Puffer wird für die Serum- und Konjugatverdünnung sowie die Waschschrte benötigt.

Vor dem Verdünnen ist das Volumen des Waschpuffers A für die entsprechende Anzahl der durchzuführenden Tests zu bestimmen. Das Magermilchpulver wird zuerst in Waschpuffer A-Konzentrat vorge löst und diese Mischung dann mit deionisiertem Wasser auf das Endvolumen aufgefüllt (Verdünnung 1 + 9). Die benötigten Mengen für eine definierte Anzahl von Teststreifen sind entsprechend folgender Formeln rechnerisch zu ermitteln (Gerätespezifisches Totvolumen ist nicht berücksichtigt):

| Reagenz | Formel | Beispiel: 5 Streifen |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Magermilchpulver [g] | = Streifen-Anzahl x 0,1 | 0,5 g |
| Waschpuffer A-Konzentrat [ml] | = Streifen-Anzahl x 2 | 10 ml |
| Deionisiertes Wasser [ml] | = Streifen-Anzahl x 18 | 90 ml |
| Gebrauchsfertiger Waschpuffer A [ml] | = Streifen-Anzahl x 20 | 100 ml |

Gebrauchsfertiger Waschpuffer A kann bei 2°C - +8°C vier Wochen gelagert werden. Der gebrauchsfertige Waschpuffer A ist geruchlos und leicht getrübt.

7.2.2 Herstellung der Konjugatlösungen

Die Konjugatlösung ist kurz vor Gebrauch herzustellen, eine Lagerung der gebrauchsfertigen Konjugatlösung ist nicht möglich.

Ein Teil des Konjugat-Konzentrats wird mit 100 Teilen gebrauchsfertigem Waschpuffer A verdünnt (1 + 100). Die benötigten Mengen für eine definierte Anzahl von Teststreifen sind entsprechend folgender Formeln rechnerisch zu ermitteln:

| Reagenz | Formel | Beispiel: 5 Streifen |
|--------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| Konjugat-Konzentrat [µl] | = Streifen-Anzahl x 20 | 100 µl |
| Gebrauchsfertiger Waschpuffer A [ml] | = Streifen-Anzahl x 2 | 10 ml |

Die Konjugatmengen sind ohne Totvolumen berechnet. Je nach Abarbeitung (manuell bzw. an einem Gerät) bitte zusätzliche Konjugatlösung für 1 bis 3 Streifen ansetzen.

8 Testverfahren

| Nr. | Durchführung | Anmerkung |
|-----|---|---|
| 1 | Alle Reagenzien vor Testbeginn für mindestens 30 Minuten auf 18°C - 25°C (Raumtemperatur) temperieren. | Die Testdurchführung erfolgt bei Raumtemperatur. |
| 2 | <u>Teststreifen vorbereiten</u> Streifen in 2 ml gebrauchsfertigem Waschpuffer A einlegen. | Die Streifen nicht mit bloßen Händen anfassen – Pinzette verwenden. Die Streifennummer zeigt nach oben. Für jeden Streifen wird eine Vertiefung in einer Inkubationsschale (siehe 4.2) benötigt. Die Streifen müssen komplett untergetaucht sein. |
| 3 | <u>Probeninkubation</u> a) 20 µl einer unverdünnten Probe (Humanserum oder Plasma) werden je Inkubationsansatz zum Teststreifen pipettiert. (Verdünnung 1 + 100) b) 1 Stunde unter leichtem Schütteln inkubieren | Probe an einem Ende des untergetauchten Streifens in den Waschpuffer A pipettieren und schnellstmöglich durch vorsichtiges Schütteln der Inkubationsschale mischen. Inkubationsschale mit Kunststoffdeckel abdecken und auf den Schüttler stellen. |
| 4 | <u>Waschen</u> a) Kunststoffdeckel vorsichtig von den Inkubationsschalen abnehmen. b) Serumverdünnung vorsichtig aus den einzelnen Vertiefungen absaugen. c) 2 ml gebrauchsfertigen Waschpuffer A in jede Vertiefung pipettieren, für 5 Minuten unter leichtem Schütteln waschen und anschließend den Waschpuffer A absaugen. | Waschschrte 8.4a-8.4c insgesamt <u>dreimal</u> durchführen. Kreuzkontamination vermeiden. Bei maschineller Abarbeitung sind diesbezüglich die Hinweise des Geräteherstellers zu beachten. |
| 5 | <u>Inkubation mit Konjugat</u> 2 ml gebrauchsfertige Konjugatlösung zugeben und 45 Minuten unter leichtem Schütteln inkubieren. | Inkubationsschale mit dem Kunststoffdeckel abdecken und auf den Schüttler stellen. |
| 6 | <u>Waschen</u> siehe unter 8.4 | Waschschrte insgesamt <u>dreimal</u> durchführen (siehe 8.4a-8.4c). |
| 7 | <u>Substratreaktion</u> 1,5 ml der Substratlösung zugeben und 8 Minuten unter leichtem Schütteln inkubieren. | |
| 8 | <u>Abstoppen der Reaktion</u> Substratlösung entfernen Mindestens dreimal kurz mit deionisiertem Wasser waschen. | |
| 9 | <u>Trocknen der Streifen</u> Streifen vorsichtig mit einer Plastikpinzette aus dem Wasser nehmen. Streifen vor Licht geschützt aufbewahren. | |

Achtung!

Inkubationslösungen dürfen nicht in andere Vertiefungen verschleppt werden. Insbesondere beim Öffnen und Schließen des Deckels sind Spritzer zu vermeiden.

9 Ergebnisse

Achtung:

Verwenden Sie nicht die automatisierte Interpretation ohne die unten beschriebenen Hinweise zur Interpretation zu beachten.

9.1 Validierung – Qualitätskontrolle

Eine Auswertung des Tests kann erfolgen, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

1. Reaktionskontroll-Bande (oberste Linie) deutlich gefärbt, dunkle Bande erkennbar.
2. Antikörperklasse (zweite, dritte und vierte Bande): die IgG-, IgA- bzw. IgM- Konjugatkontrollbande muss eine deutliche Färbung zeigen.
3. Cutoff-Kontrolle (fünfte Bande): schwache, aber sichtbare Färbung.

9.2 Auswertung

Die Auswertung der Teststreifen kann visuell oder computergestützt - mit der Teststreifenauswertungs-Software *recomScan* - erfolgen. Die *recomScan*-Software ist zur Unterstützung der Teststreifen-Interpretation bestimmt. Weitere Informationen und entsprechende Anleitungen zur computergestützten Auswertung erhalten Sie auf Anfrage bei MIKROGEN. Die nachfolgende Anleitung bezieht sich auf die visuelle Auswertung.

9.2.1 Bewertung der Bandenintensität

1. Notieren Sie im beigefügten Auswertebogen Datum und Chargen-Nummer sowie die detektierte Antikörperklasse.
2. Tragen Sie die Proben-Identifizierungs-Nummern in den Auswertebogen ein.
3. Kleben Sie nun mit einem Klebestift die dazugehörigen Teststreifen in die entsprechenden Felder des Auswertebogens. Richten Sie dazu die Teststreifen mit der Reaktionskontroll-Bande an der eingezeichneten Markierungslinie aus. Kleben Sie dann mit einem durchsichtigen Klebeband die Teststreifen links von der Markierungslinie an (Reaktionskontroll-Bande nicht überkleben!). Flüssiges Ankleben der ganzen Teststreifen mit Klebestift oder Klebeband kann zu Veränderungen der Färbung führen.
4. Identifizieren Sie nun die Banden der entwickelten Teststreifen anhand des aufgedruckten Kontrollstreifens des Auswertebogens und tragen diese in den Auswertebogen ein. Nehmen Sie dazu anhand der Tabelle 1 die Bewertung der Intensität der auftretenden Banden gesondert für die entsprechenden Immunglobulin-Klassen vor.

Tabelle 1: Bewertung der Bandenintensität im Bezug zur Cutoff-Bande

| Farbintensität der Banden | Bewertung |
|--|-----------|
| Keine Reaktion | - |
| Sehr schwache Intensität (geringer als Cutoff-Bande) | +/- |
| Schwache Intensität (entspricht Cutoff-Bande) | + |
| Starke Intensität (stärker als Cutoff-Bande) | ++ |
| Sehr starke Intensität | +++ |

Achtung !

Die Bandenmuster beim *recomLine* Chlamydia IgG-, IgA- und IgM-Nachweis können unterschiedliche Intensitäten aufweisen. Es ist möglich, dass der *recomLine* Chlamydia IgG kräftigere und dunklere Banden als der IgA bzw. IgM *recomLine* zeigt. Die Intensität der Proteinbanden ist abhängig von der Konzentration der Chlamydien-spezifischen Antikörper.

9.3 Interpretation der Testergebnisse

Das Testergebnis wird durch Addition der Punktwerte gemäß Tabelle 2 der einzelnen \geq Cutoff reaktiven Banden (d.h. mit mindestens + bewertet) bestimmt. Die resultierende Summe wird in die Spalte mit dem Summenzeichen eingetragen.

Die positive, fragliche oder negative Beurteilung der Probe kann dann mit Tabelle 3 direkt bestimmt und im Auswertebogen in die Spalte Beurteilung eingetragen werden.

Tabelle 2: Punktebewertung der Chlamydia-Antigene

| Antigen | Punktebewertung für | | | | | | | | |
|---------|---------------------------------------|-----|-----|--------------------------------------|-----|-----|------------------------------------|-----|-----|
| | <i>Chlamydia trachomatis</i> Antigene | | | <i>Chlamydia pneumoniae</i> Antigene | | | <i>Chlamydia psittaci</i> Antigene | | |
| | IgG | IgA | IgM | IgG | IgA | IgM | IgG | IgA | IgM |
| MOMP | 6 | 6 | 3 | 6 | 6 | 3 | 4/6** | 6 | 6 |
| OMP2 | 2 | 6 | 3 | 2/6* | 6 | 3 | 1 | 4 | 3 |
| TARP | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 |
| CPAF | 3 | 6 | 3 | 3 | 6 | 3 | 3 | 6 | 3 |
| HSP60 | 1 | 3 | 3 | - | - | - | - | - | - |
| YwbM | - | - | - | 6 | 6 | 3 | - | - | - |

* 6 Punkte, falls OMP2 von *C. trachomatis* und *C. psittaci* negativ sind, sonst 2 Punkte

** 6 Punkte, falls MOMP von *C. trachomatis* und von *C. pneumoniae* negativ sind, sonst 4 Punkte

Tabelle 3: Interpretation der Ergebnisse im *recomLine* Chlamydia IgG, IgA [IgM]

| Summe der Punkte | Beurteilung |
|------------------|-------------|
| ≤ 3 | negativ |
| 4 - 5 | fraglich |
| ≥ 6 | positiv |

10 Grenzen der Methode, Einschränkungen

- Serologische Testergebnisse sind immer in Zusammenhang mit dem klinischen Bild zu sehen. Therapeutische Konsequenzen der serologischen Befundung sind im Zusammenhang mit den klinischen Daten zu ziehen.
- Ein negatives *recomLine* Chlamydia IgG, IgA [IgM] Testresultat kann eine Infektion mit *Chlamydia spec.* nicht ausschließen. Besteht ein Verdacht auf eine Infektion mit *Chlamydia*, sollte nach zwei Wochen eine weitere Probenentnahme und Testung erfolgen.
- Ein positives *recomLine* Chlamydia IgG, IgA [IgM] Testresultat bedeutet nicht in jedem Fall, dass ein aktives Krankheitsgeschehen vorliegt.
- Bei der Interpretation der serologischen Ergebnisse ist es unerlässlich, die Anamnese, die klinischen Symptome und zusätzlich verfügbare Labordaten mit in die Gesamtbefundung einzubeziehen. So ist bei einem Erstrachweis von *Chlamydia*-Antikörpern und Vorliegen von eindeutigen klinischen Symptomen eine *Chlamydia*-Infektion wahrscheinlich. Zur Absicherung sollte zwei Wochen später eine zweite Probenentnahme erfolgen, um den Antikörperanstieg zu belegen.
- Beim Vorliegen einer Infektion mit dem Epstein-Barr-Virus (EBV) kann durch polyklonale Stimulierung von B-Lymphozyten eine unspezifische Reaktion beim Nachweis von Antikörpern der IgA-Klasse auftreten. Es wird empfohlen, bei positiven oder fraglichen Resultaten eine Infektion mit EBV differentialdiagnostisch auszuschließen.
- **Dunkle Teststreifen:** Manche Patientenproben können auf dem gesamten Nitrozellulose-Streifen eine dunkle, durchgängige oder gemusterte Färbung erzeugen. Hierfür sind unterschiedliche Faktoren aus dem jeweiligen Patientenserum verantwortlich. Die Auswertung dieser Streifen ist in der Regel nur mit Einschränkungen möglich. So sind zum Beispiel "inverse" Banden (weiße Banden auf dunklem Hintergrund) als negativ zu werten. Das entsprechende Serum sollte in jedem Fall mittels anderer serologischer Methoden überprüft werden.

11 Leistungsmerkmale

11.1 Sensitivität

Tabelle 4: Ergebnisse der Untersuchung von in zwei Referenztesten positiv vorbefundeten Proben

| | <i>C. trachomatis</i> | | <i>C. pneumoniae</i> | | <i>C. psittaci</i> | |
|------------------|-----------------------|------------|----------------------|------------|--------------------|-----------|
| | IgG (n=82) | IgA (n=39) | IgG (n=82) | IgA (n=20) | IgG (n=8) | IgA (n=8) |
| positiv | 80 | 37 | 80 | 20 | 6 | 8 |
| fraglich | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| negativ | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Sensitivität (%) | 100* | 100* | 99* | 100 | 100* | 100 |

* inkl. fragliche Ergebnisse

Für das IgM konnte keine Sensitivität ermittelt werden, da definiert IgM-positive Proben nicht vorlagen.

11.2 Spezifität

Tabelle 5: Ergebnisse der Untersuchung von in zwei Referenztesten negativ vorbefundeten Proben

| | <i>C. trachomatis</i> | | | <i>C. pneumoniae</i> | | | <i>C. psittaci</i> | | |
|----------------|-----------------------|-------------|-------------|----------------------|------------|-------------|--------------------|------------|-------------|
| | IgG (n=110) | IgA (n=134) | IgM (n=137) | IgG (n=51) | IgA (n=87) | IgM (n=137) | IgG (n=93) | IgA (n=96) | IgM (n=137) |
| negativ | 110 | 134 | 137 | 51 | 87 | 137 | 93 | 96 | 137 |
| fraglich | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| positiv | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Spezifität (%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

11.3 Durchseuchung

Tabelle 6: Ergebnisse der Untersuchung von 100 Blutspenderproben

| | <i>C. trachomatis</i> | | | <i>C. pneumoniae</i> | | | <i>C. psittaci</i> | | |
|---------------|-----------------------|-----|-----|----------------------|-----|-----|--------------------|-----|-----|
| | IgG | IgA | IgM | IgG | IgA | IgM | IgG | IgA | IgM |
| positiv | 15 | 3 | 0 | 41 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| fraglich | 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| negativ | 80 | 97 | 100 | 59 | 95 | 100 | 100 | 99 | 100 |
| Prävalenz (%) | 15 | 3 | 0 | 41 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |

11.4 Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität wird definiert als die Kapazität des Tests, den Analyten genau zu bestimmen bei Vorhandensein von potenziellen Interferenz-Faktoren in der Proben-Matrix (z.B. Antikoagulanzen,

Hämolyse, Effekte der Proben-Behandlung) oder Kreuzreaktionen mit potenziell interferierenden Antikörpern.

a) **Interferenzen:** Kontrollstudien über potenziell interferierende Faktoren haben gezeigt, dass die Leistungen des Tests nicht durch Antikoagulanzen (Natriumzitrat, EDTA, Heparin), Lipämie, Bilirubinämie oder Tiefgefrier- und Auftau-Zyklen der Probe beeinflusst werden. Bei hämolytischen Seren trat eine erhöhte Anzahl von positiven *Chlamydia trachomatis* IgG-Befunden auf. Im IgA konnten vereinzelt Antikörper gegen *C. trachomatis* und *C. pneumoniae* nachgewiesen werden.

b) **Kreuzreaktionen:** In Kontrollstudien wurden die potenziellen Interferenzen von Antikörpern gegen andere Organismen (z.B. EBV, CMV, *Treponema pallidum* und *Bordetella pertussis*) untersucht. Zusätzlich wurden Konditionen, die auf eine atypische Aktivität des Immunsystems zurückzuführen sind (antinukleäre Autoantikörper, Rheumafaktor, Schwangerschaft) getestet. Bei Seren von Patienten mit Infektionen durch *Treponema pallidum* zeigte sich eine erhöhte Anzahl an positiven Befunden für *Chlamydia trachomatis*, vermutlich durch Koinfektion beider Erreger. Bei Patienten mit akuter EBV und ANA-positiven Seren traten erhöhte *C. pneumoniae* IgA-Befunde auf. Bei Rheumafaktor-positiven Seren traten erhöhte *C. pneumoniae* IgG-Befunde auf. Im IgA konnten vereinzelt Antikörper gegen alle drei Chlamydien-Spezies nachgewiesen werden. In den anderen Gruppen wurden keine Kreuzreaktivitäten nachgewiesen.

12 Literatur

1. K.D. Everett, R.M. Bush and A.A. Andersen: Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001, 51 (1), 249, 251-253
2. M. Askienazy-Elbhar and J. Henry-Suchet: Persistent „silent“ *Chlamydia trachomatis* female genital tract infections. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999, 7, 31-34
3. I. Sziller, S.S. Wittkin, M. Ziegert, Z. Csapo, A. Ujhazy and Z. Papp: Serological responses of patients with ectopic pregnancy to epitopes of the *Chlamydia trachomatis* 60 kD heat shock protein. *Hum Reprod* 1998, 13, 1088-1093
4. R. Andrie, P. Braun, U. Welsch, E. Straube, W. Höpp, E. Erdmann, B. Lüderitz and G. Bauriedel: *Chlamydiales* und humanes Hitzeschockprotein 60 bei akutem Koronarsyndrom Antikörpervermittelte (Auto-) Immunreaktion als Link zwischen Infektion und Arteriosklerose. *Z Kardiol* 2003, 92 (6), 455-465
5. O. Burkhardt, E. Straube and T. Welte: Clinical picture, diagnosis and treatment of *Chlamydia pneumophila*. *Pneumologie* 2003, 57 (8), 449-458
6. S. Bas, P. Muzzin, B. Ninet, J.E. Bornand, C. Scieux and T. L. Vischer: Chlamydial Serology: Comparative Diagnostic Value of Immunoblotting, Microimmunofluorescence Test, and Immunoassays Using Different Recombinant proteins as Antigens. *J Clin Microbiol* 2001, 39 (4), 1368-1377
7. A. J. Littman, L. A. Jackson, E. White, M. D. Thornquist, C. A. Gaydos and T. L. Vaughan: Interlaboratory Reliability of Microimmuno-fluorescence test for Measurement of *Chlamydia pneumoniae*-Specific Immuno-globulin A and G Antibody Titers. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004, 11 (3), 615-617
8. S. Bunk, I. Susnea, J. Rupp, J.T. Summersgill, M. Maass, W. Stegmann, A. Schratzenholz, A. Wendel, M. Przybylski, C. Hermann: Immunoproteomic identification and serological responses to novel *Chlamydia pneumoniae* antigens that are associated with persistent *C. pneumoniae* infections. *J Immunol.* 2008 Apr 15;180(8):5490-8
9. F. Radouani, J. Maile, F. Betsou: Serological profiling with Chlamycheck, a commercial multiplex recombinant antigen Western blot assay of chlamydial infections. *Can J Microbiol.* 2007 Dec;53(12):1360-8

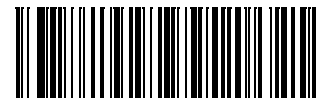
Auf Anforderung senden wir Ihnen gerne weiterführende Literatur zur Chlamydien-Diagnostik zu.

13 Erläuterung der Symbole

| | |
|-----------------------|--|
| | Inhalt ist ausreichend für <n> Ansätze Anzahl der Ansätze |
| WASHBUF A 10 X | Waschpuffer A (zehnfach konzentriert) |
| SUBS TMB | Chromogenes Substrat Tetramethylbenzidin |
| MILKPOW | Magermilchpulver |
| TESTSTR | Teststreifen |
| CONJ IgG | Anti-human IgG-Konjugat |
| CONJ IgA | Anti-human IgA-Konjugat |
| ADD | Zusatzreagenz, auf Anfrage erhältlich |
| CONJ IgM | Anti-human IgM-Konjugat |
| EVALFORM | Auswertebogen |
| INSTRU | Gebrauchsanweisung |
| | Gebrauchsanweisung beachten |
| CONT | Inhalt, enthält |
| IVD | In-vitro-Diagnostikum |
| LOT | Chargen-/Versionsnummer |
| | Nicht einfrieren |
| REF | Bestell-Nummer |
| | Verwendbar bis Verfallsdatum |
| | Lagerung bei x°C bis y°C |
| | Hersteller |

14 Hersteller- und Versionsdaten

| | |
|--|--|
| recomLine Chlamydia IgG | Artikel-Nr. 6172 |
| recomLine Chlamydia IgA [IgM] | Artikel-Nr. 6173 |
| Gebrauchsanweisung gültig ab | GARLCY012aD 2023-03 |
| | MIKROGEN GmbH Anna-Sigmund-Str. 10 82061 Neuried Germany Tel. +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 E-Mail mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de |
| | |



GARLCY012a