

Chlamydien-IgA-rELISA medac

Deutsch/English/Français



HERSTELLER/MANUFACTURER/FABRICANT

medac

Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Fehlandtstraße 3
D-20354 Hamburg

VERTRIEB/MARKETING/DISTRIBUTION

medac

Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Geschäftseinheit Diagnostika
Theaterstraße 6
D-22880 Wedel

Telefon/Phone: ++49/ 4103 / 8006 - 348
Fax: ++49/ 4103 / 8006 - 359

**BESTELLADRESSE/ORDERING ADDRESS/
ADRESSE DE COMMANDE**

Telefon/Phone: ++49/ 4103 / 8006 - 111
Fax: ++49/ 4103 / 8006 - 113

Deutsch: S. 1
English: p. 17
Français: p. 32

Literatur/References/Littérature: S./p./p. 47

Chlamydien-IgA-rELISA medac

Rekombinanter Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von spezifischen IgA-Antikörpern gegen Chlamydien-LPS in humanem Serum

Katalog-Nr.: 490/TMB

ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK

EINFÜHRUNG

Chlamydien gehören zu den gramnegativen Bakterien. Sie leben intrazellulär in den Epithelien von Schleimhäuten, Endothelien, glatten Muskelzellen der Gefäße, sowie nach neueren Erkenntnissen auch in bestimmten Gewebsstrukturen des Zentralnervensystems.

Chlamydien sind auf energiereiche Phosphate der Wirtszelle angewiesen und werden daher auch als Energieparasiten bezeichnet.

Die Gattung Chlamydia umfaßt die folgenden vier Arten: ***C. trachomatis***, ***C. pneumoniae***, ***C. psittaci*** und ***C. pecorum***.

C. trachomatis und ***C. pneumoniae*** sind ausschliesslich humanpathogen. ***C. psittaci*** ruft beim Menschen und einer Vielzahl von Tieren Infektionen hervor. ***C. pecorum*** wurde bisher nur bei Tieren nachgewiesen.

Chlamydia trachomatis gehört zu den weltweit am häufigsten sexuell übertragbaren Erregern von Infektionen des Urogenitaltrakts und des Auges. Charakteristisch für eine ***C. trachomatis***-Infektion ist ihr häufig asymptomatischer Verlauf. Hieraus resultieren viele chronische Erkrankungen, die durch die aszendierten und persistierenden Erreger unterhalten werden. Zu den Krankheitsbildern gehören:

Bei der Frau Endometritis, Adnexitis, Periappendizitis, Perihepatitis und reaktive Arthritis. Als Folge wiederholter Adnexitiden verkleben die Tuben, was häufig zur Sterilität führt.

Beim Mann können die Erreger nach nicht ausgeheilter Urethritis in die Nebenhoden (→ Epididymitis) und auch in die Prostata (→ Prostatitis) ascendieren. In diesem Zusammenhang wird ebenfalls eine Einschränkung der Fertilität diskutiert. Auch posturethritische reaktive Arthritiden sind beim Mann bekannt.

Beim Neugeborenen kann unter der Geburt ***C. trachomatis*** vom infizierten Geburtskanal übertragen werden. Als Folge davon können sich Neugeborenenkonjunktivitis und/oder -pneumonie entwickeln.

Chlamydia pneumoniae ist weltweit verbreitet. Zusätzlich zu grippalen Infekten beinhaltet das Krankheitsspektrum Sinusitis, Pharyngitis, Bronchitis, chronisch obstruktive Atemwegserkrankungen, atypische Pneumonien und reaktive Arthritis. Eine ursächliche Beteiligung an infektiionsbedingtem Asthma, Sarkoidose, Lungenkrebs, Arteriosklerose, akutem Myokardinfarkt, Schlaganfall, multipler Sklerose und Spätformen der Alzheimer Krankheit wird aktuell diskutiert.

Chlamydia psittaci infiziert Vögel und Säugetiere, die den Erreger auf den Menschen übertragen können (Ornithose). Die daraus häufig resultierenden schweren Pneumonien können ohne rasche, gezielte therapeutische Intervention zu lebensbedrohlichen Zuständen führen.

Die gängige Chlamydiendiagnostik beinhaltet Antigen- und Antikörpernachweise. Die Antigennachweise (ELISA, IFT, PCR, LCR) haben ihren Stellenwert in der Diagnostik akuter, peripher lokalisierter Infektionen. Bei aszendierten Krankheitsverläufen ist der Erregernachweis nur bedingt möglich und muss durch die Serologie ergänzt werden. Serologische Verfahren beinhalten Komplementbindungsreaktion, IFT, MIF, gattungs- und artspezifische ELISA-Systeme.

Chlamydien besitzen als immundominantes, gattungsspezifisches Antigen das Lipopolysaccharid (LPS), gegen das sich die erste Immunantwort richtet. Die entsprechenden Antikörper sind bereits innerhalb von wenigen Tagen nach Infektion nachweisbar und erlauben eine frühe Diagnostik. Bei Verwendung von Serumpaaren lassen sich kürzlich erfolgte, frische Infektionen, Reinfektionen und Reaktivierungen (definierte Titeranstiege) von chronisch persistierenden (konstante Antikörpertiter) abgrenzen. Aufgrund der begrenzten Persistenz der LPS-Antikörper nach erfolgreicher Eradizierung der Erreger wird die Diagnostik gegenwärtiger Infektionen offensichtlich nicht durch abgelaufene Expositionen beeinflusst.

Die Chlamydien-IgG-, IgA- und IgM-rELISA medac basieren auf einem molekular definierten, gentechnisch hergestellten Antigen, bei dem es sich um ein nur für Chlamydien spezifisches Fragment aus dem LPS handelt, das in keinem anderen bakteriellen LPS gefunden wird. Der Vergleich von Seren aus Patienten mit urogenitalen oder respiratorischen Chlamydieninfektionen mit denen von Blutspendern zeigt, dass Antikörper gegen Chlamydien-LPS bei Patienten signifikant häufiger als bei Blutspendern gefunden werden.

Da es sich um eine gattungsspezifische Reaktion handelt, gibt das Testergebnis als solches keinen Aufschluss darüber, um welche Chlamydienart es sich bei dem betreffenden Patienten handelt. Da aber das klinische Bild bereits festlegt, mit welcher Art zu rechnen ist und zudem alle Chlamydienarten gleiche Antibiotikaempfindlichkeit aufweisen, schränkt die gattungsspezifische Reaktivität die Aussage nicht ein.

Außer dem

Chlamydien-IgA-rELISA medac

Kat.-Nr.: **490/TMB** für 96 Bestimmungen

führen wir unter anderem die folgenden Produkte:

Chlamydien-IgG-rELISA medac

Kat.-Nr.: **480/TMB** für 96 Bestimmungen,

Chlamydien-IgM-rELISA medac

Kat.-Nr.: **485/TMB** für 96 Bestimmungen,

Chlamydia pneumoniae-IgG-sELISA medac

Kat.-Nr.: **430/TMB** für 96 Bestimmungen,

Chlamydia pneumoniae-IgA-sELISA medac

Kat.-Nr.: **431/TMB** für 96 Bestimmungen,

Chlamydia pneumoniae-IgM-sELISA medac

Kat.-Nr.: **432/TMB** für 96 Bestimmungen,

Chlamydia trachomatis-IgG-pELISA medac

Kat.-Nr.: **497/TMB** für 96 Bestimmungen,

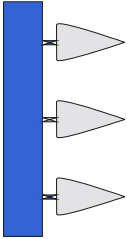
Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA medac

Kat.-Nr.: **498/TMB** für 96 Bestimmungen,

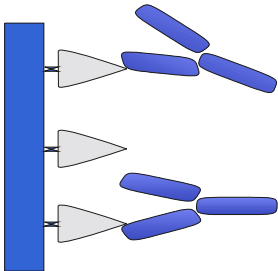
cHSP60-IgG-ELISA medac

Kat.-Nr.: **435** für 96 Bestimmungen.

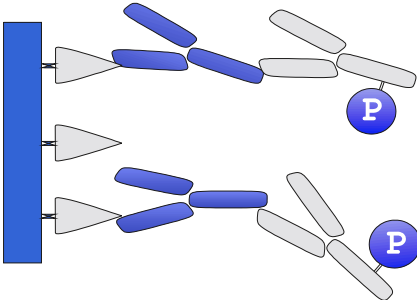
TESTPRINZIP



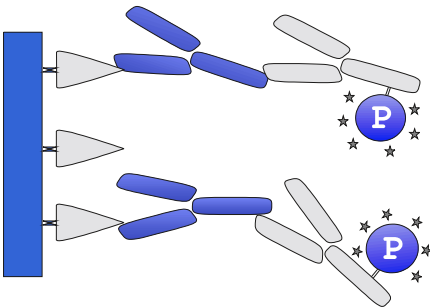
Mit rekombinantem, Chlamydien-spezifischem LPS-Fragment beschichtete Mikrotiterplatte.



Die Chlamydien-spezifischen LPS-Antikörper aus dem Patientenserum binden an das Antigen.



Das Peroxidase-gekoppelte Anti-Human-IgA bindet an die IgA-Antikörper (P = Peroxidase).



Inkubation mit TMB-Substrat (*). Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure. Die Auswertung erfolgt photometrisch.

Testvorteile

- ☞ Chemisch definiertes, Chlamydien-spezifisches Antigen.
- ☞ Keine Infektiosität des Antigenmaterials.
- ☞ Die brechbaren Mikrotiterstreifen gewährleisten eine optimale Testauslastung.

PACKUNGSINHALT

KAT.-NR. : 490/TMB

1.

MTP

Mikrotiterplatte: 12 Teststreifen à 8 Vertiefungen (mit Halterahmen und Trockenmittelpappe im Aluminiumbeutel vakuumverschweißt), brechbar, Rundboden, beschichtet mit Chlamydien-spezifischem, rekombinantem LPS-Fragment und NBCS, gebrauchsfertig.
2.

CONTROL	-
----------------	----------

Negative Kontrolle: 2 Fläschchen à 0,75 ml, humanes Serum, gebrauchsfertig, blau gefärbt, enthält NBCS, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
3.

CONTROL	+
----------------	----------

Positive Kontrolle: 2 Fläschchen à 0,75 ml, humanes Serum, gebrauchsfertig, blau gefärbt, enthält BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
4.

WB

Waschpuffer: 1 Flasche à 100 ml, PBS/Tween (10 x), pH 7,2 - 7,4, enthält ProClin™ 300.
5.

BAC-DIL

Probenverdünnungspuffer: 1 Flasche à 110 ml, PBS/Tween/NBCS, pH 7,0 - 7,2, gebrauchsfertig, blau gefärbt, enthält ProClin™ 300.
6.

CON

Konjugat: 4 Fläschchen à 5,0 ml, Ziege-Anti-Human-IgA-Antikörper, HRP-konjugiert, gebrauchsfertig, gelb gefärbt, enthält BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
7.

TMB

TMB-Substrat: 1 Fläschchen à 10 ml, gebrauchsfertig.
8.

STOP

Stopplösung: 2 Fläschchen à 14 ml, 0,5 M Schwefelsäure (H₂SO₄), gebrauchsfertig.

1. LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Material/Reagenz	Zustand	Lagerung	Haltbarkeit
Testkit	ungeöffnet	2 - 8 °C	bis Verfalldatum
Mikrotiterplatte	geöffnet	2 - 8 °C im Beutel mit Trockenmittelpappe	6 Wochen
Kontrollen	geöffnet	2 - 8 °C	6 Wochen
Waschpuffer	verdünnt	2 - 8 °C	6 Wochen
Probenverdünnungs- puffer	geöffnet	2 - 8 °C	6 Wochen
Konjugat	geöffnet	2 - 8 °C	6 Wochen
TMB-Substrat	geöffnet	2 - 8 °C	6 Wochen
Stopplösung	geöffnet	2 - 8 °C	bis Verfalldatum

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

2. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- 2.1. Aqua ad iniectabilia (H₂O bidest.). Die Verwendung von entionisiertem Wasser kann zu Störungen im Testsystem führen.
- 2.2. Mikroliterpipetten für entsprechende Volumina.
- 2.3. Saubere Glas- oder Kunststoffgefäße zum Verdünnen von Waschpuffer und Proben.
- 2.4. Geeignete Vorrichtung zum Waschen der Mikrotiterplatte (z. B. Multistepper oder ELISA-Waschgerät).
- 2.5. Inkubator für 37 °C.
- 2.6. Mikrotiterplatten-Photometer mit Filtern für 450 nm und 620 - 650 nm.

3. ANSETZEN DER REAGENZIEN

Alle Kitkomponenten müssen vor Testansatz auf Raumtemperatur (RT) gebracht werden.

Ermitteln Sie die Anzahl der benötigten Mikrotitervertiefungen.

3.1. Mikrotiterplatte

Der Aluminiumbeutel muß nach jeder Entnahme von Mikrotitervertiefungen zusammen mit der Trockenmittelpappe wieder fest verschlossen werden. Lagerung und Haltbarkeit der nicht verwendeten Mikrotitervertiefungen siehe unter Punkt 1.

3.2. Waschpuffer

1 Teil Waschpuffer (10 x) wird mit 9 Teilen Aqua ad iniectabilia angesetzt (z. B. 50 ml Waschpuffer (10 x) mit 450 ml Aqua ad iniectabilia). Für acht Vertiefungen werden 10 ml Waschpuffer benötigt.

Evtl. im Waschpuffer (10 x) vorhandene Kristalle sind vor dem Ansetzen durch Erwärmen (max. 37 °C) und/oder Rühren bei RT in Lösung zu bringen.

Die testspezifischen Reagenzien (Mikrotiterplatte, Kontrollen, Konjugat) sind nicht mit denen anderer Chargen zu mischen. Im Gegensatz dazu sind Probenverdünnungspuffer, Waschpuffer, TMB-Substrat und Stopplösung für alle Chlamydia- und Mycoplasma-ELISA medac grundsätzlich austauschbar.

Reagenzien anderer Hersteller sind generell nicht einzusetzen.

Nur bei exakter Einhaltung der Arbeitsvorschrift werden valide und reproduzierbare Ergebnisse erhalten.

4. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

- 4.1. Der Test ist geeignet zur Untersuchung von Serum, jedoch nicht für Plasma.
- 4.2. Eine Vorbehandlung der Seren, wie z. B. Inaktivierung, ist nicht erforderlich, sie sollten jedoch nicht mikrobiell kontaminiert und frei von Humanerythrocyten sein.
- 4.3. Die Seren werden 1:50 mit Probenverdünnungspuffer verdünnt.

5.A. ARBEITSVORSCHRIFT

- 5.1. Die Verpackung der Mikrotiterplatte am ZIP-Verschluß öffnen und die erforderliche Anzahl Mikrotitervertiefungen entnehmen (s. 3.1.).

Die Mikrotitervertiefungen sind gebrauchsfertig und müssen nicht vorgewaschen werden.

- 5.2. Für die Ermittlung des Leerwertes in die Vertiefung A1 50 µl Probenverdünnungspuffer pipettieren (s. 6.A.). Anschließend in Doppelbestimmung jeweils 50 µl negative Kontrolle, dann in Einfachbestimmung die positive Kontrolle (50 µl) sowie fortlaufend auch in Einfachbestimmung die verdünnten Patientenproben (50 µl) pipettieren.

Ggf. kann die Platte bis zur weiteren Bearbeitung in einer feuchten Kammer für maximal 30 min bei 2 - 8 °C gelagert werden.

5.3. Die Mikrotitervertiefungen 60 min (\pm 5 min) bei 37 °C (\pm 1 °C) inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt).

5.4. Nach Inkubation die Mikrotitervertiefungen dreimal mit jeweils 200 μ l Waschpuffer waschen. Darauf achten, daß alle Vertiefungen beim Waschen gefüllt werden. Nach Beendigung des Waschvorganges Mikrotitervertiefungen auf Filterpapier ausklopfen.

Nicht austrocknen lassen! Umgehend weiterverwenden!

5.5. Konjugat (gelb gefärbt) in alle Vertiefungen pipettieren.

Beim manuellen Abarbeiten des Tests werden 50 μ l Konjugat pro Vertiefung pipettiert.

Bitte beachten:

Beim Arbeiten mit automatisierten Gerätesystemen ist auf Grund der höheren Verdunstung in den Inkubationskammern die Zugabe von 60 μ l Konjugat pro Vertiefung zu programmieren.

Die grundsätzliche Eignung des Testes für die automatisierte Abarbeitung konnte im Rahmen der Validierung gezeigt werden. Dennoch empfehlen wir, die Kompatibilität mit dem zum Einsatz kommenden Gerätesystem zu verifizieren.

5.6. Erneut 60 min (\pm 5 min) bei 37 °C (\pm 1 °C) inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt).

5.7. Nach Inkubation die Mikrotitervertiefungen erneut waschen (s. 5.4.).

5.8. 50 μ l TMB-Substrat in jede Vertiefung pipettieren und 30 min (\pm 2 min) bei 37 °C (\pm 1 °C) im Dunkeln inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt). Positive Proben erscheinen blau gefärbt.

5.9. Durch Zugabe von 100 μ l Stopplösung in jede Vertiefung wird die Reaktion gestoppt. Es erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb.

Mikrotitervertiefungen vor photometrischer Messung von unten abwischen und darauf achten, dass keine Luftblasen in den Vertiefungen vorhanden sind!

Die Messung ist innerhalb von 15 min nach dem Stoppen durchzuführen!

5.B. TABELLE ZUR ARBEITSVORSCHRIFT

	Leerwert (A1)	Negative Kontrolle	Positive Kontrolle	Probe
Probenverdünnungspuffer	50 µl	-	-	-
Negative Kontrolle	-	50 µl	-	-
Positive Kontrolle	-	-	50 µl	-
Probe	-	-	-	50 µl
60 min bei 37 °C inkubieren, 3 x mit 200 µl Waschpuffer waschen				
Konjugat	50/60 µl *)	50/60 µl *)	50/60 µl *)	50/60 µl *)
60 min bei 37 °C inkubieren, 3 x mit 200 µl Waschpuffer waschen				
TMB-Substrat	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
30 min bei 37 °C im Dunkeln inkubieren				
Stopplösung	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Photometrische Auswertung bei 450 nm (Ref. 620 - 650 nm)				

*) manuelle/automatisierte Abarbeitung (s. 5.5.)

6.A. TESTBEURTEILUNG (VALIDITÄT)

- * Die photometrische Auswertung erfolgt bei einer Wellenlänge von 450 nm (Referenzwellenlänge 620 - 650 nm).
- * Die OD des Leerwertes (Vertiefung A1) wird von allen OD-Werten subtrahiert.
- * Der OD-Wert des Leerwertes muß **< 0,100** betragen.
- * Der OD-Mittelwert der **negativen Kontrolle** muß **< 0,200** betragen.
- * Der OD-Wert der **positiven Kontrolle** muß **> 0,800** betragen.
- * **Cut-off = OD-Mittelwert der negativen Kontrolle + 0,320**
- * **Grenzbereich = Cut-off ± 10%**

6.B. AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

6.B.1. QUALITATIV

Ergebnis	Bewertung
OD < Grenzbereich	negativ
OD des Cut-off +/- 10%	grenzwertig
OD > Grenzbereich	positiv

6.B.2. QUANTITATIV

Der **Endtiter** (= letzte positive oder grenzwertige Verdünnung) jeder Probe kann errechnet werden.

Dazu wird zuerst der Cut-off-Index berechnet:

$$\text{Cut-off-Index} = \frac{\text{OD Probe}}{\text{Cut-off}}$$

Anschliessend ist die Bestimmung des Endtiters auf zwei Wegen möglich:

1. **1:Endtiter = 55,5 x (OD/Cut-off)**

Das Ergebnis ist auf ganze Titerstufen abzurunden, d. h., auf 1:50, 1:100, 1:200, etc.

Diese Berechnung gilt für OD-Werte $\leq 2,0$. Proben mit OD-Werten $> 2,0$ sollten erneut in einer höheren Ausgangsverdünnung (z. B. 1:200) gemessen werden.

Ist eine höhere Ausgangsverdünnung als 1:50 eingesetzt worden, muß die obige Berechnungsformel mit dem entsprechend größeren Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

Beispiel: Eingesetzte Serumverdünnung 1:200, d. h. vierfach höhere Ausgangsverdünnung.

OD Probe = 1,78

Cut-off = 0,42

1:Endtiter = 55,5 x (1,78/0,42) x 4 = 940 \Rightarrow **1:800**

2. Der korrespondierende Titer zum Cut-off-Index kann auch der folgenden Tabelle entnommen werden:

Cut-off-Index	IgA	
	Ergebnis	Titer
< 0,9	Negativ	<1:50
0,9 - ≤ 1,1	Graubereich	
> 1,1 - ≤ 1,8	Positiv	1:50
> 1,8 - ≤ 3,6	Positiv	1:100
> 3,6 - ≤ 7,2	Positiv	1:200

Diese Berechnung gilt nur für OD-Werte $\leq 2,0$; ansonsten siehe oben genanntes Beispiel.

6.C. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

6.C.1. KRITERIEN FÜR SIGNIFIKANTE TITERANSTIEGE

Für die Diagnostik gegenwärtiger, frischer Infektionen, Reinfektionen und Reaktivierungen (signifikante Titeranstiege) und Abgrenzung von persistierenden Infektionen (konstante Antikörpertiter) empfehlen wir grundsätzlich den Einsatz von Serumpaaren. Sie sollten im Abstand von 10 - 14 Tagen gewonnen werden.

Als Möglichkeit zur Beurteilung signifikanter Titeranstiege sind folgende Kriterien beschrieben (Persson et al., Verkooyen et al.):

dreifacher oder größerer Anstieg
spezifischer IgG- **oder** IgA-Antikörpertiter
oder
zweifacher oder größerer Anstieg
spezifischer IgG- **und** IgA-Antikörpertiter
oder
zweifacher oder größerer Anstieg
spezifischer IgM-Antikörpertiter

6.C.2. SPEZIFISCHE IgG- und IgA-INTERPRETATION

Mögliche Ergebnisse		Interpretation
IgG	IgA	
+	+	1. IgG und IgA positiv; Hinweis auf eine aktive Infektion. Weitere Beurteilung abhängig von Symptomatik und Titerverlauf.
+	-	2. Nur IgG positiv; Anzeichen einer zurückliegenden oder persistierenden Infektion. Bei klinischem Verdacht 3-fachen IgG-Titeranstieg zwischen 2 Serumproben (Intervall 10 - 14 Tage) ermitteln und erneut auf IgA prüfen.
+	+/-	3. IgG positiv, IgA im Graubereich; Möglichkeit einer frischen oder reaktivierten oder abklingenden Infektion; Überprüfung des IgA nach 10 - 14 Tagen.
+/-	-	4. Nur IgG im Graubereich; zurückliegende Infektion nicht auszuschließen. Bei klinischem Verdacht IgG und IgA nach 10 - 14 Tagen überprüfen.
-	+	5. Nur IgA positiv; Möglichkeit eines frühen Stadiums einer aktiven Infektion oder solitär persistierendes IgA (siehe Seite 13). Überprüfung des IgA und IgG nach 10 - 14 Tagen.
-	+/-	6. Nur IgA im Graubereich; Möglichkeit eines sehr frühen Stadiums einer aktiven Infektion; Überprüfung des IgA und IgG nach 10 - 14 Tagen.
+/-	+	7. IgG im Graubereich, IgA positiv; Möglichkeit eines frühen Stadiums einer aktiven Infektion; Überprüfung des IgA und IgG nach 10 - 14 Tagen.
-	-	8. IgG und IgA negativ; kein serologischer Hinweis auf eine Infektion. Bei begründetem klinischen Verdacht sollte der direkte Erregernachweis geführt, sowie IgA und IgG nach 10 - 14 Tagen überprüft werden.

Diese Tabelle trägt Hinweischarakter.

- * Die IgA-Testergebnisse sollten stets in Verbindung mit IgG und/oder IgM und im Zusammenhang mit dem klinischen Bild der Patienten und weiteren diagnostischen Parametern interpretiert werden.
- * Werte im Grenzbereich sollten kontrolliert werden, indem nach 14 Tagen eine zusätzliche Patientenprobe entnommen wird, die zusammen mit der ersten Probe auf eine Titerbewegung untersucht wird.
- * Hohe Hämoglobin- und Bilirubinkonzentrationen im Serum beeinflussen die Testergebnisse nicht.
- * In seltenen Fällen können hohe Lipidkonzentrationen im Serum zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen.
- * Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen Parvovirus-B19 sind in Einzelfällen nicht auszuschliessen.
- * In Einzelfällen können solitäre IgA-Antikörper persistieren. Dieses immunologische Phänomen tritt bei verschiedenen bakteriellen und viralen Infektionen auf. Eine klinische Relevanz ist nicht beurteilbar.

Hinweis:

Bei 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 10 - 14 Tagen auf Serokonversion zu testen.

7. LEISTUNGSMERKMALE

Die nachfolgenden Leistungsmerkmale wurden von uns im Rahmen der diagnostischen Evaluierung ermittelt.

7.A. PRÄVALENZEN

Zur **Ermittlung der LPS-Antikörper-Prävalenzen** wurden Seren von verschiedenen Patientenkollektiven (Kultur-positive, -negative STD-Patienten, Prostituierte, infertile Frauen, infertile Männer, Rheumapatienten, Patienten mit chronisch, obstruktiven Atemwegserkrankungen [COPD]) und Kontrollen (Schwangere, 2 Blutspenderkollektive) gemessen.

Probandengruppe	Prävalenz		
	IgG	IgA	IgM
Kultur-positive STD-Patienten (medac-interne Untersuchungen)	67% (88/132)	56% (74/132)	14% (18/132)
Kultur-negative STD-Patienten (medac-interne Untersuchungen)	33% (41/125)	13% (16/125)	2% (3/125)
Prostituierte (Schmitz et al.)	85% (255/295)	47% (141/295)	21% (63/295)
Infertile Frauen (Schmitz et al.)	75% (62/83)	45% (37/83)	10% (8/83)
Infertile Männer (Schmitz et al.)	71% (144/203)	35% (71/203)	9% (18/203)
Rheumapatienten (medac-interne Untersuchungen)	83% (158/191)	63% (120/191)	7% (13/191)
COPD-Patienten (Verkooyen et al.1997)	53% (144/271)	32% (88/271)	3% (9/271)
Schwangere (medac-interne Untersuchungen)	32% (62/192)	16% (32/192)	8% (16/192)
Blutspenderkollektiv 1 (Verkooyen et al.1998)	29% (325/1104)	n.b.*	n.b.*
Blutspenderkollektiv 2 (medac-interne Untersuchungen)	37% (154/416)	13% (54/416)	3% (6/240)

*: n.b. = nicht bestimmt

7.B. PRÄZISION

Probe	Intraassay-Varianz				Probe	Interassay-Varianz (n = 11)		
	Ø OD	S	VK (%)	n		Ø OD	S	VK (%)
NK	0,110	0,013	11	23	NK	0,111	0,018	17
GW	0,632	0,033	5	24	GW	0,702	0,066	9
PK	1,944	0,044	2	24	PK	2,030	0,150	7
Nr. 1	0,463	0,020	4	24	Nr. 3	2,504	0,291	12
Nr. 2	2,587	0,086	3	24	Nr. 4	0,485	0,054	11

NK = negative Kontrolle; GW = schwach positive Kontrolle (im Kit nicht enthalten); PK = positive Kontrolle

ALLGEMEINE HANDHABUNGSHINWEISE

- * Reagenzienflaschen und deren Verschlüsse nicht vertauschen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
- * Sofort nach Gebrauch die Reagenzflaschen wieder fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- * Nach Gebrauch sind die Reagenzien sofort wieder, entsprechend den vorgeschriebenen Lagerungsbedingungen, zu lagern, um die angegebene Haltbarkeit zu gewährleisten.
- * Um Verwechslungen mit Reagenzien anderer Testsysteme oder Chargen zu vermeiden, sollten alle Kitkomponenten einer Testpackung nach dem Gebrauch zusammen in der Originalpackung gelagert werden (siehe auch 3.).

SICHERHEITSHINWEISE

- * Die national verbindlichen Arbeitsschutzvorschriften sind zu beachten.
- * Die Reagenzien humanen Ursprungs wurden auf HBsAg, Anti-HIV 1/2 und Anti-HCV untersucht und für nicht reaktiv befunden. Dennoch sollten diese Reagenzien, wie auch jene, die Bestandteile tierischer Herkunft enthalten (siehe Packungsinhalt), als potentiell infektiös behandelt werden, um das Risiko einer Ansteckung zu vermeiden.

ENTSORGUNGSHINWEISE

Die in diesem Produkt enthaltenen Chemikalien und Zubereitungen sowie die bei der Anwendung dieses Produktes anfallenden Reste sind in der Regel Abfälle, die einer ordnungsgemäßen Entsorgung zugeführt werden müssen.

Die Entsorgung solcher Abfälle unterliegt den nationalen abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen. Die zuständige Behörde oder Abfallbeseitigungsunternehmen informieren über die Entsorgung von Sonderabfällen.

Ausgabedatum: 20.08.2004

Chlamydia-IgA-rELISA medac

Recombinant enzyme immunoassay for the quantitative detection of specific IgA antibodies to chlamydial LPS in human serum

Cat. no.: 490/TMB

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTRODUCTION

Chlamydiae are gram-negative bacterial pathogens. They have an obligate intracellular life cycle in mucosal surfaces, endothelial cells, smooth muscle cells, and according to recent findings in certain tissue structures of the central nervous system. Chlamydiae depend on energy-rich phosphates of their host cells and are therefore energy parasites.

The genus chlamydia comprises four species: *C. pneumoniae*, *C. trachomatis*, *C. psittaci*, and *C. pecorum*. *C. pneumoniae* and *C. trachomatis* are obligate pathogens of humans. *C. psittaci* is pathogenic for humans and a variety of animal species. To date, *C. pecorum* has been isolated from animals only.

Chlamydia trachomatis is one of the most frequent sexually transmitted pathogens worldwide. It causes infections of the urogenital tract and the eye. In most cases *C. trachomatis* infections are asymptomatic. This results in a variety of chronic diseases, which are sustained by the ascended and persisting agents. The clinical pictures include:

In women endometritis, adnexitis, periappendicitis, perihepatitis, and reactive arthritis. As a consequence of repeated adnexitis the tubes occlude which results in sterility.

In men the pathogens may ascend to the epididymis (→ epididymitis) and into the prostate gland (→ prostatitis) after incomplete or unsuccessful treatment of urethritis. A reduction of fertility has been discussed in these cases. Furthermore, post-urethritic reactive arthritis is known in men.

In newborns *C. trachomatis* can be transferred during delivery from the infected birth channel to the infant and can cause neonatal conjunctivitis and/or pneumonia.

Chlamydia pneumoniae infections occur worldwide. In addition to flu-like illness, the clinical picture includes sinusitis, pharyngitis, bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease, atypical pneumonia, and reactive arthritis. A causal involvement in infection-conditioned asthma, sarcoidosis, lung cancer, atherosclerosis, acute myocardial infarction, stroke, multiple sclerosis, and late-onset of Alzheimer's disease has been discussed.

Chlamydia psittaci infects birds and mammals, which may transmit the pathogen to humans (ornithosis). The resultant frequently severe pneumonias may lead to life-threatening conditions if no targeted antibiotic intervention is started rapidly.

The usual laboratory methods for the detection of chlamydia infections include antigen and antibody determinations. The antigen detection (IFA, ELISA, PCR, LCR) is of value for the diagnosis of peripherally localized infections. In ascended courses of disease the detection of the pathogen is limited and has to be complemented by serology. Serological methods include complement fixation test, IFA, MIF, genus- and species-specific ELISA systems.

Chlamydiae contain as common immunodominant antigen the lipopolysaccharide (LPS), to which the first immune reaction is directed. The corresponding antibodies are already detectable within a few days after infection and, thus, allow early diagnosis. The use of paired sera enables the discrimination of current infections, reinfections, and reactivations (defined titer increases) from chronic persistent ones (constant antibody titers). Because of the limited persistence of the LPS antibodies after successful eradication of the pathogens, the diagnosis of current infections is obviously not influenced by past infections.

The Chlamydia-IgG-, IgA-, and IgM-rELISA medac are based upon a molecularly defined, genetechnologically produced antigen. It is an exclusively chlamydia-specific fragment from the LPS which has not been found in any other bacterial LPS.

The comparison of sera from blood donors with sera from patients with urogenital or respiratory infections has shown, that antibodies to chlamydial LPS are detected more frequently in patients than in blood donors.

As the reaction is genus-specific, the test result will not differentiate between the chlamydia species. However, as the clinical picture already will hint to the suspected chlamydia species and additionally all the chlamydiae show an equal sensitivity towards specific antibiotics, the genus-specific reactivity does not hamper the consequences.

In addition to the

Chlamydia-IgA-rELISA medac

Cat. no.: **490/TMB** for 96 determinations,

we also distribute the following products:

Chlamydia-IgG-rELISA medac

Cat. no.: **480/TMB** for 96 determinations,

Chlamydia-IgM-rELISA medac

Cat. no.: **485/TMB** for 96 determinations,

Chlamydia pneumoniae IgG sELISA medac

Cat. no.: **430/TMB** for 96 determinations,

Chlamydia pneumoniae IgA sELISA medac

Cat. no.: **431/TMB** for 96 determinations,

Chlamydia pneumoniae IgM sELISA medac

Cat. no.: **432/TMB** for 96 determinations,

Chlamydia trachomatis-IgG-pELISA medac

Cat. no.: **497/TMB** for 96 determinations,

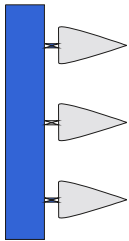
Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA medac

Cat. no.: **498/TMB** for 96 determinations,

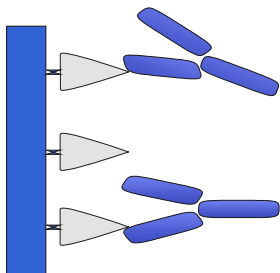
cHSP60-IgG-ELISA medac

Cat. no.: **435** for 96 determinations.

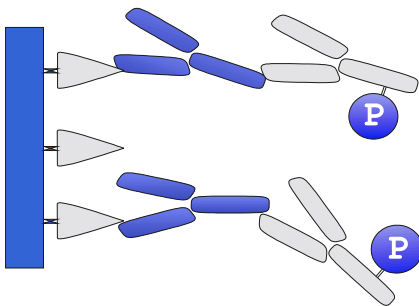
TEST PRINCIPLE



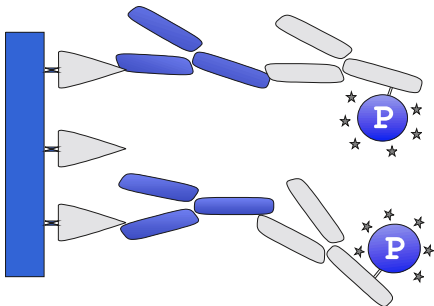
The plate is coated with chlamydia-specific LPS fragment.



The chlamydia-specific LPS antibodies from the specimen bind to the antigen.



Peroxidase-conjugated anti-human IgA antibodies bind to the IgA antibodies (P = peroxidase).



Incubation with TMB-substrate (*). The reaction is stopped by the addition of sulfuric acid. The absorption is read photometrically.

Advantages of the test

- ☞ Chemically defined, chlamydia-specific antigen.
- ☞ Non-infectious antigen material.
- ☞ The breakable microwell strips permit efficient use of the test.

KIT CONTENTS

Cat. no.: 490/TMB

1.

MTP

Microplate: 12 x 8 wells (with frame and desiccant vacuum sealed in aluminium bag), breakable, U-form, coated with chlamydia-specific, recombinant antigen and NBCS, ready to use.
2.

CONTROL	-
----------------	----------

Negative control: 2 vials with 0.75 ml each, human serum, ready to use, stained blue, contains NBCS, phenol, ProClin™ 300 and gentamycin sulfate.
3.

CONTROL	+
----------------	----------

Positive control: 2 vials with 0.75 ml each, human serum, ready to use, stained blue, contains BSA, phenol, ProClin™ 300 and gentamycin sulfate.
4.

WB

Wash buffer: 1 bottle with 100 ml PBS/Tween (10 x), pH 7.2 - 7.4, contains ProClin™ 300.
5.

BAC-DIL

Sample diluent: 1 bottle with 110 ml PBS/Tween/NBCS, pH 7.0 - 7.2, ready to use, stained blue, contains ProClin™ 300.
6.

CON

Conjugate: 4 vials with 5.0 ml each, goat anti-human IgA, HRP-conjugated, ready to use, stained yellow, contains BSA, phenol, ProClin™ 300 and gentamycin sulfate.
7.

TMB

TMB-substrate: 1 vial with 10 ml, ready to use.
8.

STOP

Stop solution: 2 vials with 14 ml each, 0.5 M sulfuric acid (H₂SO₄), ready to use.

1. STORAGE AND STABILITY

MATERIAL/REAGENT	STATE	STORAGE	STABILITY
Test kit	unopened	2 - 8 °C	until expiry date
Microplate	opened	2 - 8 °C in bag with desiccant	6 weeks
Controls	opened	2 - 8 °C	6 weeks
Wash buffer	diluted	2 - 8 °C	6 weeks
Sample diluent	opened	2 - 8 °C	6 weeks
Conjugate	opened	2 - 8 °C	6 weeks
TMB-substrate	opened	2 - 8 °C	6 weeks
Stop solution	opened	2 - 8 °C	until expiry date

Do not use the reagents after the expiry date.

2. REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- 2.1. Water for injection (H₂O redist.). Use of deionised water can disturb the test procedure.
- 2.2. Adjustable micropipettes.
- 2.3. Clean glass or plastic containers for dilution of wash buffer and specimen.
- 2.4. Suitable device for microplate washing (e.g. multistepper or ELISA washer).
- 2.5. Incubator for 37 °C.
- 2.6. Microplate reader with filters for 450 nm and 620 - 650 nm.

3. PREPARATION OF THE REAGENTS

Before starting the test procedure all kit components must be equilibrated to room temperature (RT).

Calculate the number of wells required.

3.1. Microplate

After each removal of wells the aluminium bag has to be tightly resealed together with the desiccant. Storage and stability of the wells are indicated under point 1.

3.2. Wash buffer

Mix one volume of wash buffer (10 x) with nine volumes of water for injection (e.g., 50 ml wash buffer (10 x) with 450 ml water). 10 ml of diluted wash buffer are needed for eight wells.

Crystals in the wash buffer (10 x) have to be dissolved by warming (max. 37 °C) and/or stirring at RT.

Do not mix test specific reagents (microplate, controls, conjugate) from different kit lots. In contrast to that, sample diluent, wash buffer, TMB-substrate and stop solution are generally exchangeable in all Chlamydia-and Mycoplasma-ELISA medac.

Reagents from other manufacturers must not be used in general.

Valid and reproducible results are only obtained if the test procedure is precisely followed.

4. SPECIMEN

- 4.1. The test is suitable for serum samples, but not for plasma.
- 4.2. Pretreatment of sera, e.g., inactivation, is not necessary. However, they should neither be contaminated with microorganisms nor contain red blood cells.
- 4.3. Sera have to be diluted 1:50 with sample diluent.

5.A. TEST PROCEDURE

- 5.1. Cut the aluminium bag above the zip fastener and take out the required number of microplate wells (see 3.1.).

Microplate wells are ready for use and do not have to be prewashed.

- 5.2. Pipette 50 µl of sample diluent into the well A1 as blank (see 6.A.), in duplicate each 50 µl of the negative control, and each 50 µl of the positive control and the diluted patients' samples for single determinations.

If necessary the microplate wells can be kept in a humid chamber up to 30 min at 2 - 8 °C before proceeding.

- 5.3. Incubate the microplate wells for 60 min (± 5 min) at 37 °C (± 1 °C) in a humid chamber or sealed with incubation cover foil.
- 5.4. After incubation wash the microplate wells three times with each 200 µl wash buffer per well. Pay attention that all wells are filled. After washing tap microplate wells on filter paper.

Do not allow the wells to dry out! Proceed immediately!

5.5. Add conjugate (coloured yellow) to each well.

50 μ l of conjugate have to be pipetted into the wells if the test is done manually.

Please note:

When working with automated instruments, 60 μ l of conjugate have to be pipetted into each well due to a higher evaporation in the incubation chambers of the automates.

The principal suitability of the test for automation could be shown during validation. Nevertheless we recommend to verify the compatibility with the automate employed.

5.6. Incubate the microplate wells again for 60 min (\pm 5 min) at 37 °C (\pm 1 °C) in a humid chamber or sealed with incubation cover foil.

5.7. After incubation wash microplate wells again (see 5.4.).

5.8 Add 50 μ l of TMB-substrate to each well and incubate the microplate wells for 30 min (\pm 2 min) at 37 °C (\pm 1 °C) in a humid chamber or sealed with incubation cover foil in the dark. Positive samples turn blue.

5.9. Stop the reaction by adding 100 μ l of stop solution to each well. Positive samples turn yellow.

Clean microplate wells from underneath before the photometric reading and take care that there are no air bubbles in the wells.

The reading should be done within 15 min after adding the stop solution!

5.B. TABLE FOR THE TEST PROCEDURE

	Blank (A1)	Negative control	Positive control	Sample
Sample diluent	50 µl	-	-	-
Negative control	-	50 µl	-	-
Positive control	-	-	50 µl	-
Sample	-	-	-	50 µl
Incubate for 60 min at 37 °C, wash 3 x with 200 µl wash buffer.				
Conjugate	50/60 µl *)	50/60 µl *)	50/60 µl *)	50/60 µl *)
Incubate for 60 min at 37 °C, wash 3 x with 200 µl wash buffer.				
TMB-substrate	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Incubate for 30 min at 37 °C in the dark.				
Stop solution	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Photometric reading at 450 nm (ref. 620 - 650 nm)				

*) manual/automatic procedure (see 5.5.)

6.A. CALCULATION OF RESULTS (VALIDITY)

- * Read OD values at 450 nm (reference wavelength 620 - 650 nm).
- * Subtract the OD value of the blank (well A1) from all other OD values.
- * The OD value of the blank has to be **< 0.100**.
- * The mean OD value of the **negative control** has to be **< 0.200**.
- * The OD value of the **positive control** has to be **> 0.800**.
- * **Cut-off = mean OD value of the negative control + 0.320**
- * **Grey zone = Cut-off ± 10%**

6.B. EVALUATION OF RESULTS

6.B.1. QUALITATIVE

Result	Valuation
OD < Grey zone	negative
OD of Cut-off +/- 10%	equivocal
OD > Grey zone	positive

6.B.2. QUANTITATIVE

The endtiter (= last positive or borderline dilution) of each sample can be calculated.

Firstly, the cut-off index has to be calculated.

$$\text{Cut-off Index} = \frac{\text{OD Sample}}{\text{Cut-off}}$$

Secondly, the calculation of the endtiter is possible in two ways:

1. $1:\text{Endtiter} = 55.5 \times (\text{OD}/\text{Cut-off})$

The result has to be rounded down to the next lower whole titer step, i.e., to 1:50, 1:100, 1:200, etc.

This calculation is valid for OD values ≤ 2.0 . Samples with OD values > 2.0 should be retested employing a higher starting dilution (e.g., 1:200).

If a higher starting dilution than 1:50 has been used the above mentioned formula has to be multiplied with the corresponding dilution factor.

Example: Employed sample dilution 1:200 means an fourfold higher starting dilution.

$$\begin{aligned} \text{OD} &= 1.78 \\ \text{Cut-off} &= 0.42 \\ \mathbf{1:\text{Endtiter}} &= 55.5 \times (1.78/0.42) \times 4 = 940 \Rightarrow \mathbf{1:800} \end{aligned}$$

2. The endtiter which corresponds to the cut-off index can also be determined from the table below.

Cut-off Index	IgA	
	Result	Titer
< 0.9	Negative	< 1:50
0.9 - ≤ 1.1	Equivocal	
> 1.1 - ≤ 1.8	Positive	1:50
> 1.8 - ≤ 3.6	Positive	1:100
> 3.6 - ≤ 7.2	Positive	1:200

This calculation is only valid for OD values ≤ 2.0; otherwise see above mentioned example.

6.C. INTERPRETATION OF THE RESULTS

6.C.1. CRITERIA FOR SIGNIFICANT TITER INCREASES

For the diagnosis of current, fresh infections, reinfections, reactivations (significant titer increases) and dissociation from persistent infections (constant antibody titers) we principally recommend the use of paired sera. They should be obtained 10 - 14 days apart.

The following criteria have been described as a possibility for the assessment of significant titer increases (Persson et al., Verkooyen et al.):

Threefold or greater increase in
 specific IgG **or** IgA antibody titers
 or
 twofold or greater increase in
 specific IgG **and** IgA antibody titers
 or
 twofold or greater increase in
 specific IgM antibody titers

6.C.2. SPECIFIC IgG and IgA INTERPRETATION

Possible Results IgG IgA	Interpretation
+ +	1. IgG and IgA positive; indication of active infection. Further judgement dependent on symptoms and titer course.
+ -	2. Only IgG positive; indication of a past infection. In case of clinical suspicion determine a threefold IgG titer increase between two serum samples (interval 10 - 14 days) and retest for IgA.
+ +/-	3. IgG positive, IgA grey zone; possibility of a fresh or a reactivated or subsiding infection; retest IgG and IgA after 10 - 14 days.
+/- -	4. Only IgG in grey zone; past infection cannot be excluded. In case of clinical suspicion retest IgG and IgA after 10 - 14 days.
- +	5. Only IgA positive; possibility of an early stage of active infection or solitary persisting IgA (see p.29). Retest IgA and IgG after 10 - 14 days.
- +/-	6. Only IgA in the grey zone; possibility of a very early stage of active infection; retest IgG and IgA after 10 - 14 days.
+/- +	7. IgG in the grey zone, IgA positive; possibility of an early stage of active infection. Retest IgG and IgA after 10 - 14 days.
- -	8. IgG and IgA negative; no serological indication of infection. In case of justified clinical suspicion perform direct antigen detection and retest IgG and IgA after 10 - 14 days.

This table should be used as guideline only.

- * The IgA results should always be interpreted in connection with IgG and/or IgM, the clinical picture and additional diagnostic parameters.
- * Samples with OD values within the grey zone should be retested together with a fresh specimen taken 14 days later in order to determine a titer change.
- * High concentrations of hemoglobin and of bilirubin in serum do not have an influence on the results.
- * Scarcely, high lipid concentrations in serum may influence the test results.
- * Cross-reactivities with antibodies to parvovirus-B19 may not be excluded in individual cases.
- * In individual cases solitary IgA antibodies may persist. This immunological phenomenon occurs in various bacterial and viral infections. A clinical relevance cannot be assessed.

Comment:

In cases of fresh acute chlamydial infections the serological antibody results may be negative despite clinics and positive antigen detection. If a serological confirmation of a positive antigen result or if a follow-up is desired we recommend to test after 10 - 14 days for seroconversion.

7. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

We determined the following performance characteristics during the diagnostic evaluation.

7.A. PREVALENCE

Sera from various patients cohorts (culture-positive, -negative STD patients, prostitutes, infertile females, infertile males, patients with rheumatic diseases, patients with chronic obstructive respiratory diseases [COPD]), and controls (pregnant women, 2 blood donor cohorts) were investigated for the **determination of LPS antibody prevalence.**

Cohorts	Prevalence		
	IgG	IgA	IgM
Culture-positive STD patients (medac-internal investigations)	67% (88/132)	56% (74/132)	14% (18/132)
Culture-negative STD patients (medac-internal investigations)	33% (41/125)	13% (16/125)	2% (3/125)
Prostitutes (Schmitz et al.)	86% (255/295)	47% (141/295)	25% (63/295)
Infertile females (Schmitz et al.)	75% (62/83)	45% (37/83)	10% (8/83)
Infertile males (Schmitz et al.)	71% (144/203)	35% (71/203)	9% (18/203)
Patients with rheumatic diseases (medac-internal investigations)	83% (158/191)	63% (120/191)	7% (13/191)
COPD patients (Verkooyen et al. 1997)	53% (144/271)	32% (88/271)	3% (9/271)
Pregnant women (medac-internal investigations)	32% (62/192)	17% (32/192)	8% (16/192)
Blood donor group 1 (Verkooyen et al. 1998)	29% (325/1104)	n.d*	n.d*
Blood donor group 2 (medac-internal investigations)	37% (154/416)	13% (54/416)	3% (6/240)

*: n.d = not determined

7.B. PRECISION

Sample	Intra-assay variation				Sample	Interassay variation (n = 11)		
	Ø OD	SD	CV (%)	n		Ø OD	SD	CV (%)
NC	0.110	0.013	11	23	NC	0.111	0.018	17
BC	0.632	0.033	5	24	BC	0.702	0.066	9
PC	1.944	0.044	2	24	PC	2.030	0.150	7
N° 1	0.463	0.020	4	24	N° 3	2.504	0.291	12
N° 2	2.587	0.086	3	24	N° 4	0.485	0.054	11

NC = negative control; BC = weak positive control (not included in the kit);
PC = positive control

GENERAL HANDLING ADVICES

- * Do not exchange the vials and their screw caps in order to avoid cross contamination.
- * The reagents have to be sealed immediately after use in order to avoid evaporation and microbial contamination.
- * After use, the reagents have to be stored as indicated to guarantee the shelf life.
- * After use, all components of the testkit should be stored in the original package, in order to avoid mixing up the reagents of other test systems or lots (see also 3.).

HEALTH AND SAFETY INFORMATION

- * The local occupational safety and health regulations have to be regarded.
- * Reagents of human origin have been tested and found to be negative for HBsAg, for antibodies to HIV-1/2 and to HCV. Nevertheless, it is strongly recommended that these materials as well as those of animal origin (see kit contents), should be handled as potentially infectious and used with all necessary precautions.

DISPOSAL CONSIDERATIONS

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

Date of issue: 20.08.2004

Chlamydia-IgA-rELISA medac

Immunoessai enzymatique recombinant pour la détection quantitative des anticorps spécifiques IgA anti-LPS du genre chlamydia dans le sérum humain

Réf.: 490/TMB

DESTINEE UNIQUEMENT AU DIAGNOSTIC IN VITRO

INTRODUCTION

Les chlamydiae sont des bactéries pathogènes gram négatives. Elles ont un cycle vital intracellulaire obligatoire dans les couches superficielles des muqueuses, dans les cellules endothéliales, dans les cellules du muscle lisse et selon découvertes récentes dans certaines structures tissulaires du système nerveux central. Les chlamydiae dépendent des phosphates riches en énergie de leurs cellules hôtes et sont par conséquent appelés des parasites énergétiques.

Le genre chlamydia comprend quatre espèces: *C. pneumoniae*, *C. trachomatis*, *C. psittaci* et *C. pecorum*. *C. pneumoniae* et *C. trachomatis* sont des pathogènes de l'homme uniquement. *C. psittaci* est pathogène pour l'homme et de nombreuses espèces animales. Jusqu'à présent, *C. pecorum* a été isolé uniquement chez les animaux.

Chlamydia trachomatis est l'un des agents les plus fréquents, dans le monde, causant des infections sexuellement transmissibles du tract urogénital et de l'œil. Dans la plupart des cas, les infections à *C. trachomatis* sont asymptomatiques. Ceci entraîne plusieurs maladies chroniques entretenues par les agents ascendants et persistants. Les tableaux cliniques incluent:

Chez la femme endométrite, adnexite, périappendicite, périhépatite et arthrite réactive. La conséquence des adnexites répétées est une occlusion tubaire avec pour résultat une stérilité.

Chez l'homme les pathogènes peuvent envahir l'épididyme (→ épididymite) et la glande prostate (prostatite) après une uréthrite traitée de manière incomplète ou sans succès. Dans ce cadre aussi, une réduction de la fertilité a été discutée. De plus, de l'arthrite réactive post uréthrite a été décrite.

Chez le nouveau-né *C. trachomatis* peut infecter l'enfant pendant l'accouchement et peut causer une conjonctivite néonatale et/ou une pneumonie.

Chlamydia pneumoniae surviennent dans le monde entier. En plus de maladies de type grippal, le tableau clinique inclut la sinusite, la pharyngite, la bronchite, la maladie chronique obstructive pulmonaire, la pneumonie atypique et l'arthrite réactive. Une implication causale des infections dans l'asthme, la sarcoïdose, le cancer pulmonaire, l'athérosclérose, infarctus aigu du myocarde, l'attaque d'apoplexie, la sclérose multiple et l'apparition tardive de la maladie d'Alzheimer ont été décrits.

Chlamydia psittaci infecte les oiseaux et les mammifères qui peuvent transmettre le pathogène à l'homme (ornithose). Les pneumonies sévères qui en résultent peuvent mener à des conditions dangereuses pour la survie si une intervention rapide par antibiotiques n'est pas commencée.

Le diagnostic des infections à chlamydiae réside dans la détermination des antigènes et des anticorps. La détection antigénique (IFA, ELISA, PCR, LCR) est importante pour le diagnostic des infections périphériques. Dans les cours ascendants de la maladie, la détection du pathogène est limitée et doit être complétée par la sérologie. Les méthodes sérologiques incluent le test de fixation de complément, IFA, MIF, ELISA spécifiques de genre et d'espèce.

Les chlamydiae contiennent comme antigène commun immunodominant le lipopolysaccharide (LPS), contre lequel est dirigée la première réaction immunitaire. Les anticorps correspondants sont déjà détectables quelques jours après l'infection et, de ce fait, permet un diagnostic précoce. L'utilisation de paires de sera permet la discrimination des infections courantes, des réinfections, des réactivations (augmentation définie de titre) et des infections chroniques persistantes (titres constants d'anticorps). A cause de la persistance limitée des anticorps anti-LPS après éradication réussie du pathogène, le diagnostic des infections courantes n'est, de manière évidente, pas influencée par des infections anciennes.

Les Chlamydia-IgG-, IgA- et IgM-rELISA medac sont basés sur un antigène de structure moléculaire définie, produit par technologie génétique. Il s'agit d'un fragment LPS spécifique du genre chlamydia qui n'a été trouvé dans aucun autre LPS bactérien.

La comparaison de sera de patients avec des infections génitales ou respiratoires à chlamydia, avec ceux de donneurs de sang, montre que la présence d'anticorps anti-chlamydia LPS est détectée plus fréquemment chez les patients que chez les donneurs de sang.

La réaction étant spécifique de genre, le résultat ne va pas différencier les espèces de chlamydia; cependant, les symptômes cliniques vont déjà orienter à l'espèce de chlamydia suspectée et de plus tous les chlamydiae montrent une sensibilité équivalente aux antibiotiques; la détection de genre n'aura pas de conséquences.

En plus de

Chlamydia-IgA-rELISA medac

Réf.: **490/TMB** pour 96 déterminations

nous distribuons également les produits suivants:

Chlamydia-IgG-rELISA medac

Réf.: **480/TMB** pour 96 déterminations,

Chlamydia-IgM-rELISA medac

Réf.: **485/TMB** pour 96 déterminations,

Chlamydia pneumoniae-IgG-sELISA medac

Réf.: **430/TMB** pour 96 déterminations,

Chlamydia pneumoniae-IgA-sELISA medac

Réf.: **431/TMB** pour 96 déterminations,

Chlamydia pneumoniae-IgM-sELISA medac

Réf.: **432/TMB** pour 96 déterminations,

Chlamydia trachomatis-IgG-pELISA medac

Réf.: **497/TMB** pour 96 déterminations,

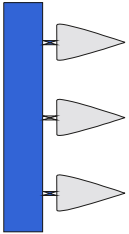
Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA medac

Réf.: **498/TMB** pour 96 déterminations,

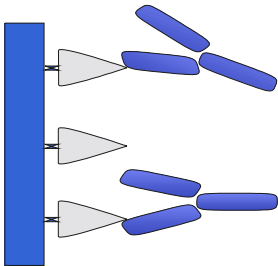
CHSP60-IgG-ELISA medac

Réf.: **435** pour 96 déterminations.

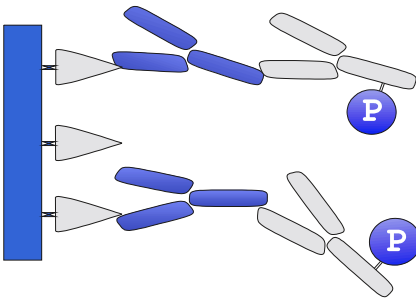
PRINCIPE DU DOSAGE



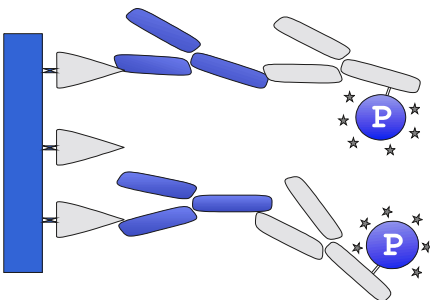
La plaque est revêtue d'une préparation antigénique de fragments LPS spécifiques de genre chlamydia.



Les anticorps spécifiques anti-chlamydia-LPS présents dans l'échantillon, vont se lier à l'antigène.



Les anticorps anti-IgA humaines conjugués à la peroxidase vont se lier aux anticorps IgA (P = peroxidase).



Incubation avec TMB-substrat(*). La réaction est arrêtée par l'ajout d'acide sulfurique. L'absorption est lue par un spectrophotomètre.

Avantages du dosage

- ☞ Structure chimiquement définie de l'antigène spécifique du genre chlamydia.
- ☞ Matériel antigénique non infectieux.
- ☞ Micropuits sécables permettant l'utilisation optimale du kit.

CONTENU DE LA TROUSSE

Réf.: 490/TMB

1.

MTP

Microplaque: 12 x 8 puits en U (avec support et dessicatif, dans un sachet d'aluminium sous vide), sécables, revêtus du fragment recombinant de LPS, spécifique du genre chlamydia, et de serum de veau nouveau-né, prêts à l'emploi.
2.

CONTROL	-
----------------	---

Contrôle négatif: 2 flacons de 0,75 ml chacun, contenant du sérum humain; prêt à l'emploi, couleur bleue, contient du sérum de veau nouveau-né, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulphate de gentamicine.
3.

CONTROL	+
----------------	---

Contrôle positif: 2 flacons de 0,75 ml chacun, contenant du sérum humain; prêt à l'emploi, couleur bleue. Contient de la SAB, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulphate de gentamicine.
4.

WB

Tampon de lavage: 1 flacon de 100 ml contenant un tampon PBS/Tween (10 x), pH 7,2 - 7,4, contient du ProClin™ 300.
5.

BAC-DIL

Diluant pour échantillons: 1 flacon de 110 ml contenant une solution tamponnée PBS/Tween/sérum de veau nouveau-né, pH 7,0 - 7,2, prête à l'emploi, couleur bleue, contient du ProClin™ 300.
6.

CON

Conjugué: 4 flacons de 5,0 ml chacun, contenant une solution d'immunoglobulines de chèvre anti-IgA humaines conjuguées à de la peroxydase du raifort (HRP), prête à l'emploi, couleur jaune, contient de la SAB, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulphate de gentamicine.
7.

TMB

TMB-substrat: 1 flacon de 10 ml de solution, prête à l'emploi.
8.

STOP

Solution d'arrêt: 2 flacons de 14 ml chacun, contenant de l'acide sulfurique (H₂SO₄) 0,5 M, prête à l'emploi.

1. CONSERVATION ET STABILITÉ

Matériel / Réactifs	Etat	Conservation	Stabilité
Trousse	non ouvert	2 - 8 °C	jusqu'à date de péremption
Microplaque	ouvert	2 - 8 °C dans le sachet avec dessicatif.	6 semaines
Contrôles	ouvert	2 - 8 °C	6 semaines
Tampon de lavage	dilué	2 - 8 °C	6 semaines
Diluant pour échantillons	ouvert	2 - 8 °C	6 semaines
Conjugué	ouvert	2 - 8 °C	6 semaines
TMB-substrat	ouvert	2 - 8 °C	6 semaines
Solution d'arrêt	ouvert	2 - 8 °C	jusqu'à date de péremption

Ne pas utiliser les réactifs après leur date de péremption.

2. RÉACTIFS ET MATÉRIEL NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- 2.1. Eau pour injection ou bidistillée. L'utilisation d'eau désionisée n'est pas conseillée.
- 2.2. Micropipettes réglables.
- 2.3. Récipients propres en plastique ou en verre pour la dilution du tampon de lavage et des sérums de patients.
- 2.4. Dispositif de lavage des microplaques (par exemple multistepper ou ELISA washer).
- 2.4. Incubateur à 37 °C.
- 2.6. Lecteur de plaque avec filtres de 450 nm et 620 - 650 nm.

3. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Avant de démarrer la procédure de dosage, tous les composants de la trousse doivent être amenés à température ambiante.

Calculer le nombre de puits nécessaires.

3.1. Microplaque

Le sachet d'aluminium avec le dessicatif doit être soigneusement rescellé, après avoir retiré les puits. La conservation et la durée de vie des puits sont indiqués au point 1.

3.2. Tampon de lavage

Mélanger un volume de tampon de lavage (10 x) avec 9 volumes d'eau pour injection ou bidistillée (par exemple 50 ml de tampon de lavage (10 x) avec 450 ml d'eau). 10 ml de tampon dilué sont nécessaires pour 8 puits.

Des cristaux peuvent se former dans la solution concentrée de lavage (10 x). Dissoudre ces cristaux en chauffant (maximum 37 °C) et/ou en tournant, à température ambiante.

Ne pas mélanger les réactifs spécifiques du test (microplaque, contrôles, conjugué) de différents lots. Par contre, le diluant pour échantillon, le tampon de lavage, le substrat-TMB, et la solution d'arrêt sont interchangeables dans tous les Chlamydiae- et Mycoplasmes-ELISA medac.

Des réactifs d'autres fabricants ne peuvent pas être utilisés.

Des résultats valides et reproductibles sont obtenus uniquement en suivant strictement la notice d'emploi.

4. ECHANTILLONS

4.1. Le test est à utiliser avec des échantillons sériques, mais pas avec des échantillons de plasma.

4.2. Le traitement préalable du sérum, ex. inactivation, n'est pas nécessaire. Toutefois, il ne doit être contaminé par des micro-organismes ni contenir des érythrocytes.

4.3. Les échantillons sériques doivent être dilués 1/50 avec le diluant pour échantillons.

5.A. PROCEDURE DE DOSAGE

5.1. Couper le sachet d'aluminium au-dessus du zip et extraire le nombre des puits nécessaires (voir 3.1.).

Les puits sont prêts à l'emploi et ne doivent pas être pré-lavés.

5.2. Distribuer 50 µl de diluant pour échantillons dans le puits blanc A1 (voir 6.A.) et 50 µl de contrôle négatif (en doublets), de contrôle positif et d'échantillon de patient dilué dans les puits respectifs.

Remarque: La plaque peut, à ce stade de la technique, être conservée dans une chambre humide 30 min à une température de 2 à 8 °C.

- 5.3. Incuber la microplaque pendant 60 min (\pm 5 min) à 37 °C (\pm 1 °C) en chambre humide ou recouverte avec un couvercle d'incubation.
- 5.4. Après incubation, laver les puits trois fois avec 200 μ l de tampon de lavage par puits. Vérifier que tous les puits sont bien remplis. Après lavage, tapoter délicatement les puits sur du papier absorbant.

Ne pas laisser sécher les puits! Poursuivre immédiatement la procédure!

- 5.5. Ajouter le conjugué (couleur jaune) dans chaque puits.

Distribuer 50 μ l de conjugué dans les puits si la procédure est réalisée manuellement.

Attention:

Si la procédure est réalisée sur automate, il faut distribuer 60 μ l de conjugué dans chaque puits, en raison de l'évaporation élevée des chambres d'incubation des automates.

L'apititude principale d'automatiser le test pourrait être montrée pendant la validation. Néanmoins, nous recommandons de vérifier la compatibilité avec l'automate employé.

- 5.6. Incuber à nouveau la microplaque pendant 60 min (\pm 5 min) à 37 °C (\pm 1 °C) en chambre humide ou recouverte avec un couvercle d'incubation.
- 5.7. Après incubation, laver les puits de nouveau (voir 5.4.).
- 5.8. Ajouter 50 μ l de TMB-substrat dans chaque puits et incuber la microplaque, pendant 30 min (\pm 2 min) à 37 °C (\pm 1 °C) en chambre humide ou recouverte avec un couvercle d'incubation, dans l'obscurité. Les échantillons positifs deviennent bleus.
- 5.9. Arrêter la réaction en ajoutant 100 μ l de solution d'arrêt dans chaque puits. Les échantillons positifs deviennent jaunes.

Bien nettoyer le dessous des puits avant la lecture photométrique et vérifier l'absence de bulles d'air dans les puits.

La lecture doit être effectuée dans les 15 minutes après l'ajout de la Solution d'arrêt!

5.B. TABLEAU DE DISTRIBUTION DES RÉACTIFS

	Blanc (A1)	Contrôle négatif	Contrôle positif	Echantillon
Diluant pour échantillons	50 µl	-	-	-
Contrôle négatif	-	50 µl	-	-
Contrôle positif	-	-	50 µl	-
Echantillon	-	-	-	50 µl
Incuber pendant 60 min à 37 °C, laver trois fois avec 200 µl de tampon de lavage.				
Conjugué	50/60 µl*	50/60 µl*	50/60 µl*	50/60 µl*
Incuber pendant 60 min à 37 °C, laver trois fois avec 200 µl de tampon de lavage.				
TMB-substrat	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Incuber pendant 30 min à 37 °C dans l'obscurité.				
Solution d'arrêt	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Lecture photométrique à 450 nm (référence: 620 - 650 nm).				

*: procédure manuelle/automatique (voir 5.5.).

6.A. CALCUL DES RESULTATS (VALIDITE)

- * Lire les valeurs d'absorbance (D.O.) à 450 nm (longueur d'onde de référence 620 - 650 nm).
- * Soustraire la valeur D.O. du puits blanc (puits A1) de toutes les autres valeurs de D.O.
- * La valeur D.O. du puits blanc doit être inférieure à **0,100**.
- * La valeur moyenne D.O. du **contrôle négatif** doit être inférieure à **0,200**.
- * La valeur D.O. du **contrôle positif** doit être supérieure à **0,800**.
- * **Valeur seuil (cut off) = valeur moyenne D.O. du contrôle négatif + 0,320**
- * **Zone grise = valeur seuil ± 10%.**

6.B. EVALUATION DES RÉSULTATS

6.B.1. QUALITATIVE

Résultat	Interprétation
OD < zone grise	négative
cut off +/- 10%	douteux
OD > zone grise	positive

6.B.2. QUANTITATIVE

Le titre final (= dernière dilution positive ou limite) peut être calculé.

Tout d'abord l'index cut off doit être calculé.

$$\text{Cut off index} = \frac{\text{D.O. échantillon}}{\text{Cut-off}}$$

Le calcul du titre final est dès lors possible de deux manières.

1. 1:titre final = 55,5 x (D.O. / cut off)

Le résultat doit être arrondi vers le titre entier suivant inférieur, à savoir 1:50, 1:100, 1:200, etc.

Ce calcul est valide pour des valeurs de D.O. $\leq 2,0$. Les échantillons ayant des valeurs de D.O. $> 2,0$ devraient être retestés avec une dilution de départ supérieure (par ex. 1:200).

Si une dilution de départ supérieure à 1:50 doit être utilisée, la formule mentionnée ci-dessus doit être multipliée par le facteur de dilution correspondant.

Exemple: La dilution d'échantillon utilisée est 1:200, cela signifie une dilution de départ quatre fois plus élevée.

$$\text{D.O.} = 1,78$$

$$\text{Cut off} = 0,42$$

$$\text{1:titre final} = 55,5 \times (1,78/0,42) \times 4 = 940 \Rightarrow \text{1:800}$$

2. Le titre qui correspond à l'index cut off peut aussi être déterminé à partir du tableau suivant.

Cut off Index	IgA	
	Résultat	Titre
< 0,9	Négatif	<1:50
0,9 - ≤ 1,1	Douteux	
> 1,1 - ≤ 1,8	Positif	1:50
> 1,8 - ≤ 3,6	Positif	1:100
> 3,6 - ≤ 7,2	Positif	1:200

Ce calcul est seulement valable pour des valeurs de D.O. ≤ 2,0; autrement voir l'exemple mentionné ci-dessus.

6.C. INTERPRETATION DES RESULTATS

6.C.1. CRITERES POUR DES AUGMENTATIONS SIGNIFICATIVES DE TITRES

Pour le diagnostic d'infections courantes, récentes, réactivations (augmentations significatives de titre) et la différenciation des infections persistantes (titres constants d'anticorps) nous recommandons principalement l'utilisation de paires de séra. Elles doivent être obtenues avec un interval de 10 - 14 jours.

Les critères suivants ont été décrits comme une possibilité pour l'estimation des augmentations de titres significatives (Persson et al., Verkooyen et al.):

Augmentation d'un factor trois ou plus dans les titres d'anticorps spécifiques IgG **ou** IgA

ou

Augmentation d'un factor deux ou plus dans les titres d'anticorps spécifiques IgG **et** IgA

ou

Augmentation d'un factor deux ou plus dans les titres d'anticorps spécifiques IgM

6.C.2. INTERPRÉTATION SPECIFIQUE IgG / IgA

Résultats possibles		Interprétation
IgG	IgA	
+	+	1. IgG et IgA positives; indication d'infection active. L'interprétation finale dépendra des symptômes et de l'évolution du titre.
+	-	2. Seul IgG positive; indication d'infection passée ou persistante. En cas de suspicion clinique, déterminer une augmentation du titre d'IgG (3 x) entre 2 échantillons et doser à nouveau les IgA.
+	+/-	3. IgG positive, IgA dans la zone grise; possibilité d'infection récente ou réactivée ou diminuée; doser à nouveau les IgA après 10 - 14 jours.
+/-	-	4. Uniquement des IgG en zone grise; une infection passée ne peut pas exclue. En cas de suspicion clinique, doser à nouveau les IgG et IgA après 10 - 14 jours.
-	+	5. Uniquement positif pour IgA; possibilité d'un stade précoce d'infection active ou d'IgA persistant solitaire (voir p.45); doser à nouveau les IgA et IgG après 10 - 14 jours.
-	+/-	6. Uniquement des IgA en zone grise; possibilité d'un stade très précoce d'infection active ou d'IgA persistant; doser à nouveau les IgA et IgG après 10 - 14 jours.
+/-	+	7. IgG en zone grise, IgA positive; possibilité d'un stade précoce d'une infection active ; doser à nouveau les IgA et IgG après 10 - 14 jours.
-	-	8. IgG et IgA négatives; n'indique pas d'infection. Dans le cas de suspicion clinique justifiée, une détection directe d'antigène devrait être réalisée, ainsi qu'un nouveau dosage d'IgA et IgG après 10 - 14 jours.

Ce tableau doit être utilisé seulement comme indicatif.

- * Chaque valeur IgA devrait être interprétée en relation avec IgG et/ou IgM, le tableau clinique et d'autres paramètres de diagnostic.
- * Des échantillons qui ont des valeurs D.O. dans la zone grise doivent être dosés de nouveau avec des échantillons frais prélevés 14 jours après, afin de pouvoir déterminer un changement dans le titre d'anticorps.
- * Des concentrations élevées d'hémoglobine et de bilirubine dans le sérum n'ont pas d'influence sur les résultats.
- * Des hautes concentrations en lipides dans le sérum peuvent à peine influencer les résultats du test.
- * Dans certains cas, des réactions croisées avec des anticorps anti-parvovirus B19 ne peuvent pas être exclues.
- * Dans certains cas individuels des anticorps IgA peuvent persister. Ce phénomène immunologique apparaît dans différentes infections bactériennes et virales. Une signification clinique n'a pu être établie.

Commentaire :

Dans le cas d'infections à chlamydia aiguës récentes, le résultat des anticorps sérologiques peut être négatif, malgré le tableau clinique et une détection positive d'antigènes. Si l'on souhaite une confirmation sérologique du résultat d'antigène positif ou un suivi, il est conseillé de refaire le test après 10 - 14 jours pour déterminer l'existence d'une séroconversion.

7. PERFORMANCE DU DOSAGE

Les caractéristiques des performances ont été déterminées pendant l'évaluation diagnostique.

7.A. PREVALENCE

Des sera des différents cohortes de patients (cultures positives, négatives de patients avec MST, prostituées, femmes infertiles, hommes infertiles, patients avec maladies chroniques obstructives pulmonaires [COPD]) et des contrôles (femmes enceintes, 2 cohortes de donneurs de sang) ont été investiguées pour la **détermination de la prévalence des anticorps LPS.**

Cohortes	Prevalence		
	IgG	IgA	IgM
Patients MST cultures positives (études internes medac)	67% (88/132)	56% (74/132)	14% (18/132)
Patients MST cultures négatives (études internes medac)	33% (41/125)	13% (16/125)	2% (3/125)
Prostituées (Schmitz et al.)	86% (255/295)	47% (141/295)	25% (63/295)
Femmes infertiles (Schmitz et al.)	75% (62/83)	45% (37/83)	10% (8/83)
Hommes infertiles (Schmitz et al.)	71% (144/203)	35% (71/203)	9% (18/203)
Patients avec maladies rhéumatoïdes (études internes medac)	83% (158/191)	63% (120/191)	7% (13/191)
Patients COPD (Verkooyen et al. 1997)	53% (144/271)	32% (88/271)	3% (9/271)
Femmes enceintes (medac-internal investigations)	32% (62/192)	17% (32/192)	8% (16/192)
Donneurs de sang groupe 1 (Verkooyen et al. 1998)	29% (325/1104)	n.d*	n.d*
Donneurs de sang groupe 2 (études internes medac)	37% (154/416)	13% (54/416)	3% (6/240)

*: n.d = non déterminé

7.B. PRECISION

Echan- tillon	Variation Intra-essai				Echan- tillon	Variation Inter-essais (n = 11)		
	DO moyenne	E.T.	CV (%)	n		DO moyenne	E.T.	CV (%)
NC	0,110	0,013	11	23	NC	0,111	0,018	17
BC	0,632	0,033	5	24	BC	0,702	0,066	9
PC	1,944	0,044	2	24	PC	2,030	0,150	7
N° 1	0,463	0,020	4	24	N° 3	2,504	0,291	12
N° 2	2,587	0,086	3	24	N° 4	0,485	0,054	11

NC = contrôle négatif; BC = contrôle positif bas (non inclus dans la trousse); PC = contrôle positif

INDICATIONS GÉNÉRALES

- * Ne pas échanger les flacons et leurs bouchons pour éviter les contaminations croisées.
- * Les flacons des réactifs doivent être refermés immédiatement après leur utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- * Après emploi, les réactifs doivent être conservés comme indiqué pour garantir leur durée de vie.
- * Après leur utilisation, conserver tous les composants de la trousse dans leur emballage d'origine, afin d'éviter le mélange des réactifs concernant d'autres techniques de dosage ou d'autres lots (voir aussi 3.).

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

- * Il faut appliquer la réglementation en vigueur en matière de sécurité et de santé.
- * Les réactifs d'origine humaine ont été dosés et trouvés négatifs en AgHBs, en anticorps anti-HIV 1/2 et anti-VHC. Néanmoins, il est fortement conseillé de manipuler ces produits, ainsi que ceux d'origine animale (voir contenu de la trousse), comme étant potentiellement infectieux et de les utiliser avec les précautions nécessaires.

CONSEIL D'ELIMINATION

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchet doit se faire selon la réglementation en vigueur. Il faut consulter les organismes agréés pour connaître le moyen de se débarrasser des déchets.

Date de mise à jour: 20.08.2004

LITERATUR/REFERENCES/LITTERATURE

Balin, B.J., Gérard, H.C., Arking, E.J., Appelt, D.M., Branigan, P.J., Abrams, J.T., Whittum-Hudson, J.A., Hudson, A.P.: Identification and localization of ***Chlamydia pneumoniae*** in the Alzheimer's brain. Med. Microbiol. Immunol. 187, 23-42 (1998).

Brade, L., Holst, O., Kosma, P., Zhang, Y.-X., Paulsen, H., Krausse, R., Brade, H.: Characterization of murine monoclonal and murine, rabbit, and human polyclonal antibodies against chlamydial Lipopolysaccharide. Infect. Immun. 58, 205-213 (1990).

Brade, L., Brunnemann, H., Ernst, M., Fu, Y., Kosma, P., Näher, H., Persson, K., Brade, H.: Occurrence of Antibodies against chlamydial Lipopolysaccharide in Human Sera as measured by ELISA using an artificial Glycoconjugate antigen. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 8, 27-42 (1994).

Diedrichs, H., Schneider, C.A., Scharkus, S., Pfister, H., Erdmann, E.: Prävalenz von Chlamydien-Antikörpern bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung. Herz/Kreisl. 29, 304-307 (1997).

Elkind, M.S., Lin, I.F., Grayston, J.T., Sacco, R.L.: ***Chlamydia pneumoniae*** and the risk of first ischemic stroke. The Northern Manhattan stroke study. Stroke 31, 1521-1525 (2000).

Falck, G., Gnarpe, J., Gnarpe, H.: Persistent *Chlamydia pneumoniae* infections in a Swedish family. Scand. J. Infect. Dis. 28, 271-273 (1996)

Gérard, H.C., Schumacher R.H., El-Gabalawi, H., Goldbach-Mansky, R., Hudson, A.P.: ***Chlamydia pneumoniae*** present in the human synovium are viable and metabolically active. Microbiol. Pathol. 29, 17-24 (2000).

Grayston, J.T., Wang, S.P., Kuo, C.C., Campbell L.A.: Current knowledge of ***Chlamydia pneumoniae***, strain **TWAR**, an important cause of pneumonia and other respiratory diseases. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8, 191-202 (1989).

Gupta, S., Leatham, E.W., Carrington, D., Mendall, M.A., Kaski, J.C., Camm, A.J.: Elevated ***Chlamydia pneumoniae*** antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. Circulation 96, 404-407 (1997).

Hahn, D.L., Peeling, R.W., Dillon, E., McDonald, R., Saikku, P.: Serologic markers for ***C. pneumoniae*** in asthma. Ann. Allergy Asthma Immunol. 84, 227-233 (2000).

Köhler, M., Jendro, C.: Bedeutung der Persistenz von **Chlamydia trachomatis** im Gelenk für die Pathogenese der Chlamydien-induzierten Arthritis unter Berücksichtigung der therapeutischen Implikationen. Akt. Rheumatol. 22, 170-175 (1997).

Land, J.A., Evers, J.L., Goossens, J.V.: How to use Chlamydia antibody testing in subfertility patients. Hum. Reprod. 13, 1094-1098 (1998).

Maass, M., Bartels, C., Engel, P., Mamat, U., Sievers, H.H.: Endovascular presence of viable **Chlamydia pneumoniae** is a common phenomenon in coronary artery disease. JACC 31, 827-32 (1997).

Morré, S.A., De Groot, C.J., Killestein, J., Meijer, C.J., Polman, C.H., Van der Falk, P., Van den Brule, A.J.: Is **Chlamydia pneumoniae** present in the central nervous system of multiple sclerosis patients? Ann. Neurol. 48, 399 (2000).

Paavonen, J.: **Chlamydia trachomatis**: A major cause of mucopurulent cervicitis and pelvic inflammatory disease in women. In: Sexually Transmitted Diseases. Advances in Diagnosis and Treatment. Curr. Probl. Dermatol. Elsner, P., Eichmann, A. (eds.). Basel, Karger, 24, 110-122 (1996).

Patton, D., Askienazy-Elbhar, M., Henry-Suchet, J., Campbell, L.A., Cappucio, A., Tannous, W., Wang, S.-P., Kuo, S.-C.: Detection of **Chlamydia trachomatis** in fallopian tube tissue in women with post-infectious tubal infertility. Am. J. Obstet. Gynecol. 171, 95-101 (1994).

Persson, K., Haidl, S.: Evaluation of a commercial test for antibodies to the chlamydial lipopolysaccharide (Medac™) for serodiagnosis of acute infections by **Chlamydia pneumoniae (TWAR)** and **Chlamydia psittaci**. APMIS 108, 131-138 (2000).

Petersen, E.E., Clad, A.: Genitale Chlamydieninfektionen. Deutsches Ärzteblatt 92, A-277-282 (1995).

Saikku, P.: Diagnosis of acute and chronic **Chlamydia pneumoniae** infections. In: Orfila, J. et al. (eds). Chlamydial Infections. Proc. Eighth Int. Symp. on Human Chlamydial Infect. Società Editrice Esculapio, Bologna, Italy, p 163-170 (1994).

Schachter, J.: The intracellular life of Chlamydia. Curr. Top. Microbiol. Immun. 138, 109-39 (1988).

Schmitz, F.J., Küppers, B., Reinartz, R., Vossel, R., Schuppe, D., Bielfeld, D., Heinz, H.P.: Prevalence of **Chlamydia trachomatis** antigen and Chlamydia antibodies in prostitutes, infertile female and infertile male patients - Comparison of different methods. In: Sary,

A. (ed.) Proc. Europ. Soc. Chlamydia Res. Società Editrice Esculapio, Bologna, Italy, p. 339 (1996).

Sriram, S., Stratton, C.W., Yao S.: **Chlamydia pneumoniae** infections in the central nervous system in multiple sclerosis. Ann. Neurol. 46, 6-14 (1999).

Verkooyen, R.P., Van Lent, N.A., Mousavi Joulandan, S.A., Snijder, R.J., van den Bosch, J.M., van Helden, H.P., Verbrugh, H.A.: Diagnosis of **Chlamydia pneumoniae** infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease by micro-immunofluorescence and ELISA. J. Med. Microbiol. 46, 959-964 (1997).

Verkooyen, R.P., Willemse, D., Hiep-van Casteren S.C.A.M., Mousavi Joulandan, S.A., Snijder, R.J., van den Bosch, J.M.M., van Helden, H.P.T., Peeters, M.F., Verbrugh, H.A.: Evaluation of PCR, culture, and serology for diagnosis of **Chlamydia pneumoniae** respiratory infections. J. Clin. Microbiol., 36, 2301-2307 (1998).

Ward, M.E.: The immunobiology and immunopathology of chlamydial infections. APMIS 103, 769-796 (1995).

Weström, L.V.: Chlamydia and its effect on reproduction. J. Brit. Fertil. Soc. 1, 23-30 (1996).

Wollenhaupt, J., Zeidler, H.: Klinik, Diagnostik und Therapie der Chlamydien-induzierten Arthritis. Akt. Rheumatol. 22, 176-182 (1997).