Chlamydien-IgG-rELISA medac

Ελληνικά

CE
0123

ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΣ

medac
Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Theaterstraße 6
D-22880 Wedel

www.medac-diagnostika.de
E-Mail: diagnostics@medac.de
Τηλέφωνο: ++49/4103/8006-0
Φαξ : ++49/4103/8006-359

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΩΝ

E-Mail: auftrag@medac.de
Τηλέφωνο: ++49/4103/8006-111
Φαξ : ++49/4103/8006-113

Chlamydien-IgG-rELISA medac
Ανασυνδυασμένη ενζυμική ανοσολογική δοκιμασία για την ποσοτική ανίχνευση των IgG αντισωμάτων έναντι του ειδικού τμήματος του λιποπολυσακχαρίτη (LPS) σε ορο και EDTA πλάσμα

Cat. no.: 480-TMB

ΜΟΝΟ ΓΙΑ IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα χλαμύδια είναι gram-αρνητικά παθογόνα βακτήρια. Έχουν έναν υποχρεωτικά ενδοκυττάριο κύκλο ζωής σε βλεννογόνες επιφάνειες, ενδοθηλιακά κύτταρα, λείες μυϊκές ίνες και, σύμφωνα με πρόσφατα ευρήματα σε ορισμένες ιστικές δομές του κεντρικού νευρικού συστήματος. Τα χλαμύδια εξαρτώνται από φωσφορικά πλούσια σε ενέργεια των κυττάρων του ξενιστή και αποτελούν ως εκ τούτου ενεργειακά παράσιτα.

Το γένος των χλαμυδίων περιλαμβάνει τέσσερα είδη: Τα ***C. pneumoniae, C. trachomatis, C. psittaci,*** και ***C. pecorum***. ***C. pneumoniae*** και ***C. trachomatis*** είναι υποχρεωτικά παθογόνα για τον άνθρωπο. Το ***C. psittaci*** είναι παθογόνο για τον άνθρωπο και για διάφορα είδη ζώων. Μέχρι σήμερα, το ***C. pecorum*** έχει απομονωθεί μόνο από ζώα.

Το ***Chlamydia trachomatis*** είναι ένα από το πιο συνηθισμένα σεξουαλικά μεταδιδόμενα παθογόνα μικρόβια παγκοσμίως. Προκαλεί λοιμώξεις του ουρογεννητικού συστήματος και του οφθαλμού. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι λοιμώξεις από ***C. trachomatis*** είναι ασυμπτωματικές. Αυτό οδηγεί σε μια ποικιλία χρόνιων παθήσεων, οι οποίες διατηρούνται από τους ανερχόμενους και εμμένοντες παράγοντες. Οι κλινικές εικόνες περιλαμβάνουν στη γυναίκα: Ενδομητρίτιδα, φλεγμονή των εξαρτημάτων της μήτρας, περισκωλικοειδική φλεγμονή, περιηπατική φλεγμονή, και αντιδραστική αρθρίτιδα. Ως αποτέλεσμα των επανειλημμένων επεισοδίων εξαρτηματίτιδας οι σάλπιγγες αποφράσσονται, γεγονός που οδηγεί σε στειρότητα.
Στους άρρενες τα παθογόνα μικρόβια μπορεί να ανέλθουν στην επιδιδυμίδα (→ επιδιδυμίτιδα) και στον προστάτη (→ προστατίτιδα) μετά από ανεπαρκή ή ανεπιτυχή θεραπεία της ουρηθρίτιδας. Κάποια μείωση της γονιμότητας συζητείται στις περιπτώσεις αυτές. Επιπλέον, η μετά από ουρηθρίτιδα αντιδραστική αρθρίτιδα είναι γνωστή στους άνδρες.
Στα νεογέννητα, τα ***C. trachomatis*** μπορούν να μεταφερθούν κατά τον τοκετό από τον μολυσμένο γεννητικό σωλήνα και να προκαλέσουν στο νεογνό νεογνική επιπεφυκίτιδα ή πνευμονία.

Οι λοιμώξεις από ***Chlamydia pneumoniae*** εμφανίζονται σε όλο τον κόσμο. Εκτός από τη γριπώδη συνδρομή, η κλινική εικόνα περιλαμβάνει ιγμορίτιδα, φαρυγγίτιδα, βρογχίτιδα, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, άτυπη πνευμονία και αντιδραστική αρθρίτιδα. Η αιτιολογική συσχέτιση με το άσθμα λοιμωδών καταστάσεων, τη σαρκοείδωση, την αρτηριοσκλήρυνση, το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, το εγκεφαλικό επεισόδιο, τη σκλήρυνση κατά πλάκας, και την όψιμη εμφάνιση νόσου του Alzheimer έχει συζητηθεί.

Τα ***Chlamydia psittaci*** προσβάλουν πτηνά και θηλαστικά τα οποία μπορούν να μεταδώσουν το παθογόνο στον άνθρωπο. Το αποτέλεσμα είναι συχνά η πνευμονία που μπορεί να οδηγήσει σε απειλητικές για τη ζωή καταστάσεις αν δεν αρχίσει γρήγορα αντιβιοτική θεραπεία με στόχο τα χλαμύδια.

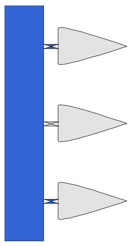
Οι συνήθεις εργαστηριακές μέθοδοι για την ανίχνευση των χλαμυδίων περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό αντιγόνων και αντισωμάτων. Η ανίχνευση αντιγόνων (IFA, ELISA, PCR) έχει αξία στη διάγνωση περιφερικά εντοπιζόμενων λοιμώξεων. Επί ανιούσας πορείας της νόσου η ανίχνευση του παθογόνου μικροβίου είναι περιορισμένη και θα πρέπει να συμπληρώνεται από ορολογικές εξετάσεις. Οι ορολογικές μέθοδοι περιλαμβάνουν την εξέταση καθήλωσης του συμπληρώματος, την IFA,την MIF, τα συστήματα ELISA ειδικά για το γένος και το είδος.

Τα χλαμύδια περιέχουν ως κύριο ανοσοκυρίαρχο αντιγόνο το λιποπολυσακχαρίτη (LPS), στον οποίο κατευθύνεται η πρώτη ανοσολογική αντίδραση. Τα αντίστοιχα αντισώματα ανιχνεύονται ήδη μέσα σε λίγες ημέρες από τη μόλυνση και επιτρέπουν έτσι την έγκαιρη διάγνωση. Η χρήση ζεύγους δειγματων επιτρέπει τη διάκριση μεταξύ πρόσφατων λοιμώξεων, επαναλοιμώξεων και αναζοπυρώσεων (προσδιορίζεται η αύξηση του τίτλου) και χρόνιων λοιμώξεων (σταθεροί τίτλοι αντισωμάτων). Λόγω περιορισμένης παραμονής των LPS αντισωμάτων μετά από επιτυχημένη εκρίζωση του παθογόνου μικροβίου, η διάγνωση πρόσφατης λοίμωξης προφανώς δεν επηρεάζεται από προηγούμενες λοιμώξεις.

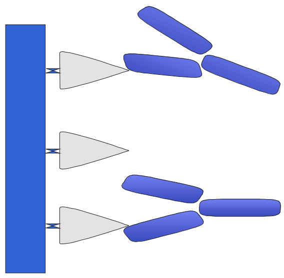
Τα Chlamydien-IgG-, IgA-, και IgM-rELISA medac βασίζονται σε ένα μοριακά προσδιοριζόμενο, παραγόμενο με γονιδιακή τεχνολογία αντιγόνο. Είναι ένα αποκλειστικό για τα χλαμύδια-ειδικό κλάσμα από το LPS που δεν έχει βρεθεί σε κανένα άλλο βακτηριδιακό LPS. Η σύγκριση του ορού αιμοδοτών με τον ορό ασθενών με πυρογεννητική λοίμωξη ή λοίμωξη του αναπνευστικού έχει δείξει ότι τα αντισώματα έναντι του LPS των χλαμυδίων ανιχνεύονται συχνότερα στους ασθενείς αυτούς παρά στους αιμοδότες.

Καθώς η αντίδραση είναι ειδική του γένους, τα αποτελέσματα της εξέτασης δεν διακρίνουν το είδος του χλαμυδίου. Ωστόσο, καθώς η κλινική εικόνα θα θέσει υποψίες για το υπεύθυνο είδος χλαμυδίων και επιπλέον όλα τα χλαμύδια παρουσιάζουν ισοδύναμη ευαισθησία έναντι συγκεκριμένων αντιβιοτικών, η ειδική για το γένος αντιδραστικότητα δεν παρεμποδίζει τη διάγνωση.

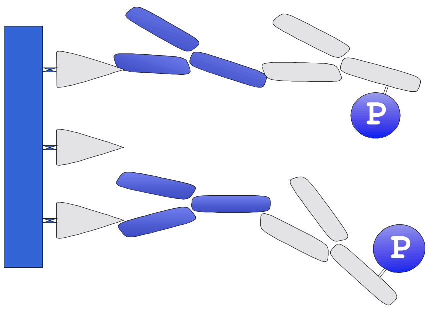
ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ



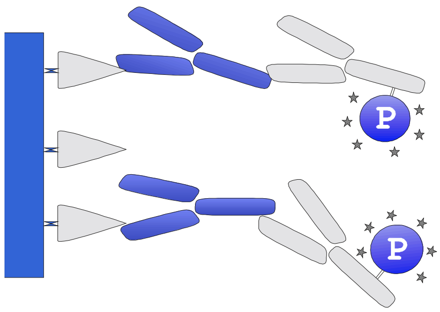
Η πλάκα είναι επικαλυμμένη με ειδικά τμήματα του LPS των χλαμυδίων.



Τα αντισώματα του δείγματος έναντι των ειδικών τμημάτων του LPS των χλαμυδίων συνδέονται στο αντιγόνο.



Η συζευγμένη υπεροξειδάση των αντι-ανθρώπινων IgG αντισωμάτων συνδέεται στα αντισώματα IgG (P = υπεροξειδάση).



Επώαση με TMB (*). Η αντίδραση σταματάει με την προσθήκη θειϊκού οξέος. Η απορρόφηση μετριέται φωτομετρικά.

Πλεονεκτήματα της εξέτασης

☞ Χημικά καθοριζόμενο ειδικό για τα χλαμύδια αντιγόνο.

☞ Τα αποχωριζόμενα strips επιτρέπουν την αποτελεσματική χρήση της εξέτασης.

☞ Αυτοματοποιημενο για ανοιχτα οργανα ELISA.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΟΥ KIT
Cat. no.: 480-TMB

1. **MTP**

   Μικροπλάκα: 12 x 8 πηγαδάκια (τυπωμένο με **CHG**, με πλαίσιο και αποξηραντικό, αεροστεγώς συσκευασμένα σε σακούλα αλουμινίου), διασπώμενα, φόρμα-U, καλυμμένα με ειδικό για τα χλαμύδια ανασυνδυασμένο αντιγόνο και NBCS, έτοιμα για χρήση.

2. **CONTROL | –**

   Αρνητικός μάρτυρας: 1 φιαλίδιο 1,5 ml, ανθρώπινος ορός, έτοιμος για χρήση, χρωματισμένος κυανός, περιέχει NBCS, φαινόλη (0,09 %), Pro-Clin™ 300 (< 0,0015 % XMIT/MIT)[1,2] και gentamycin sulfate (0,005 %). gentamycin sulfate.

3. **CONTROL | +**

   Θετικός μάρτυρας: 1 φιαλίδιο 1,5 ml, ανθρώπινος ορός, έτοιμος για χρήση, χρωματισμένος κυανός, περιέχει BSA, φαινόλη (0,09 %), Pro-Clin™ 300 (< 0,0015 % XMIT/MIT)[1,2] και gentamycin sulfate (0,005 %). gentamycin sulfate.

4. **WB**

   Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης: 1 φιαλίδιο με 100 ml 0,1 M PBS/Tween (10x), pH 7,2 - 7,4, περιέχει ProClin™ 300 (0,017 % XMIT/MIT)[1].

5. **BAC-DIL**

   Διαλύτης δείγματος: 1 φιαλίδιο με 110 ml 0,01 M PBS/Tween/NBCS, pH 7,0 -7,2, έτοιμο για χρήση, χρωματισμένο κυανό, περιέχει ProClin™ 300 (0,008 % XMIT/MIT)[1].

6. **CON**

   Conjugate: 3 φιαλίδια με 4,5 ml έκαστο, αντι-ανθρώπινα IgG αίγας, HRP-συζευγμένα, έτοιμο για χρήση, χρωματισμένο πράσινο, περιέχει BSA, φαινόλη (0,09 %), ProClin™ 300 (< 0,0015 % XMIT/MIT)[1,2] και gentamycin sulfate (0,005 %).

7. **TMB**

   TMB-Υπόστρωμα: 1 φιαλίδιο με 10 ml, έτοιμο για χρήση.

8. **STOP**

   Διάλυμα τερματισμού: 2 φιαλίδια με 11 ml έκαστο, 0,5 M sulfuric acid (H_2SO_4), έτοιμο για χρήση.
   Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.

[1] Μείγμα από: 5-χλωρο-2-μεθυλο-2H-ισοθειαζολ-3-όνη και 2-μεθυλο-2H-ισοθειαζολ-3-όνη (3:1).
[2] Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική αντίδραση. Δελτίο δεδομένων ασφαλείας παρέχεται εφόσον ζητηθεί (βλ. CD-ROM)

1. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

ΥΛΙΚΟ/ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ	ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ	ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ
Κιτ εξέτασης	κλειστό	2...8 °C	Μέχρι την ημερομηνία λήξης
Μικροπλάκα	ανοιγμένο	2...8 °C σε σακούλα με αποξηραντικό	6 εβδομάδες
Μάρτυρες	ανοιγμένο	2...8 °C	6 εβδομάδες
Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης	αραιωμένο	2...8 °C	6 εβδομάδες
Διαλύτης δείγματος	ανοιγμένο	2...8 °C	6 εβδομάδες
Conjugate	ανοιγμένο	2...8 °C	6 εβδομάδες
TMB-Υπόστρωμα	ανοιγμένο	2...8 °C	6 εβδομάδες
Διάλυμα τερματισμού	ανοιγμένο	2...8 °C	Μέχρι την ημερομηνία λήξης

Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.

2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΧΡΕΙΑΖΟΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕ ΧΟΡΗΓΟΥΝΤΑΙ

2.1. Ύδωρ αποσταγμενο και αποιονισμενο.

2.2. Προσαρμοζόμενες μικροπιπέτες.

2.3. Καθαροί γυάλινοι ή πλαστικοί περιέκτες για αραίωση του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης και του δείγματος.

2.4. Κατάλληλη συσκευή για πλύση μικροπλάκας (π.χ. Multistepper ή ELISA washer).

2.5. Επωαστήρας για 37 °C.

2.6. Συσκευή ανάγνωσης μικροπλάκας με φίλτρα για 450 nm και 620 - 650 nm.

3. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Πριν την έναρξη της διαδικασίας της εξέτασης, όλα τα περιεχόμενα του κιτ θα πρέπει να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου (RT).

Υπολογίστε τα πηγαδάκια που χρειάζονται.

3.1. Μικροπλάκα
Μετά από κάθε αφαίρεση strips η σακούλα αλουμινίου θα πρέπει να σφραγιστεί και πάλι σφιχτά μαζί με το αποξηραντικό. Η φύλαξη και η σταθερότητα υποδεικνύονται στον στο κεφάλαιο 1.

3.2. Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

Αναμίξτε ένα μέρος ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης (10x) με εννιά μέρη ύδατος αποσταγμενο και αποιονισμενο (π.χ., 50 ml ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης (10x) με 450 ml ύδατος). 10 ml αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης χρειάζονται για οκτώ πηγαδάκια.

Οι κρύσταλλοι στο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (10x) πρέπει να διαλυθούν με θέρμανση (μέγιστο 37 °C) ή/και ανακάτεμα σε θερμοκρασία δωματίου.

Μην αναμιγνύετε τα ειδικά αντιδραστήρια της εξέτασης (μικροπλάκα, μάρτυρες, conjugate)με αντίστοιχα αντιδραστήρια διαφορετικών παρτίδων. Αντιθέτως, διαλύτης δείγματος, ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης, TMB-Υπόστρωμα, και διάλυμα τερματισμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν αδιακρίτως σε όλα τα κιτ προσδιορισμού χλαμυδίων και μυκοπλάσματος με τη μέθοδο Elisa medac.

Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια διαφορετικών κατασκευαστών.

Έγκυρα και επαναλήψιμα αποτελέσματα λαμβάνονται μόνο αν ακολουθηθεί με ακρίβεια η διαδικασία της εξέτασης.

4. ΔΕΙΓΜΑ

4.1. Η εξέταση είναι κατάλληλη για δείγματα ορού και για EDTA πλάσμα. Τα δείγματα των ασθενών μπορούν να αποθηκευτούν για 7 ημέρες στους 2-8 °C. Τυχόν μακροχρόνια αποθήκευση να γίνεται στη κατάψυξη σε θερμοκρασία ≤ -20 °C. Να αποφεύγονται πολλαπλές αποψύξεις και επανακαταψύξεις των δειγμάτων.

4.2. Προετοιμασία των δειγματων, π.χ. απενεργοποίηση δε χρειάζεται. Ωστόσο, τα δειγματα δε θα πρέπει να είναι επιμολυσμένα με έπει να αραιωθούν 1:100 με το διαλύτη δείγματος.

4.3. Τα δειγματα θα πρέπει να αραιωθούν 1:100 με το διαλύτη δείγματος.

5.Α. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

5.1. Κόψτε τη σακούλα αλουμινίου πάνω από τη σύνδεση και βγάλτε τον απαιτούμενο αριθμό strips (δείτε 3.1.).

Τα strips είναι έτοιμα για χρήση και δε χρειάζεται να υποβληθούν σε πρόπλυση.

5.2. Βάλτε με πιπέτα 50 μl διαλύτη δείγματος στο πηγαδάκι A1 ως κενό (δείτε 6.Α.), εις διπλούν κάθε 50 μl αρνητικού μάρτυρα, και κάθε 50 μl θετικού μάρτυρα και τα αραιωμένα δείγματα ασθενών για ένα προσδιορισμό.

Αν χρειαστεί, τα πηγαδάκια της μικροπλάκας μπορούν να διατηρηθούν σε υγρό θάλαμο μέχρι και για 30 λεπτά στους 2 – 8 °C πριν τη διαδικασία.

5.3. Επωάστε τα πηγαδάκια της μικροπλάκας για 60 λεπτά (± 5 λεπτά) στους 37 °C (± 1 °C) σε υγρό θάλαμο ή σφραγισμένες με κάλυμμα αλουμινίου επώασης.

5.4. Μετά την επώαση πλύνετε τα πηγαδάκια της μικροπλάκας τρεις φορές με 200 µl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά πηγαδάκι. Προσέξτε να είναι πλήρεις όλα τα πηγαδάκια. Μετά την πλύση στραγγίστε τα πηγαδάκια της μικροπλάκας σε διηθητικό χαρτί.

Μην αφήνετε τα πηγαδάκια να στεγνώσουν! Συνεχίστε αμέσως!

5.5. Προσθέστε conjugate (πράσινο χρώμα) σε κάθε πηγαδάκι.

Προσθέστε 50 µl conjugate με πιπέτα στα πηγαδάκια αν η εξέταση γίνεται με το χέρι.

<u>Παρακαλώ σημειώστε:</u>
Όταν δουλεύετε με αυτοματοποιημένα όργανα, προσθέστε 60 µl conjugate με πιπέτα σε κάθε πηγαδάκι λόγω της μεγαλύτερης εξάτμισης στους θαλάμους επώασης των αυτόματων συσκευών.

Η κύρια καταλληλότητα της εξέτασης για αυτοματοποίηση μπορεί να φανεί κατά την αξιολόγηση. Ωστόσο συστήνουμε την επαλήθευση της συμβατότητας με το αυτόματο όργανο που χρησιμοποιείται.

5.6. Επωάστε τα πηγαδάκια της μικροπλάκας πάλι για 60 λεπτά (± 5 λεπτά) στους 37 °C (± 1 °C) σε υγρό θάλαμο ή σφραγισμένα με κάλυμμα επώασης.

5.7. Μετά την επώαση πλύνετε ξανά τα πηγαδάκια της μικροπλάκας (δείτε 5.4.).

5.8. Προσθέστε 50 µl TMB-Υποστρώματος σε κάθε πηγαδάκι και επωάστε τα πηγαδάκια της μικροπλάκας για 30 λεπτά (± 2 λεπτά) στους 37 °C (± 1 °C) σε υγρό θάλαμο ή σφραγισμένα με κάλυμμα επώασης στο σκοτάδι. Τα θετικά δείγματα γίνονται κυανά.

5.9. Σταματήστε την αντίδραση προσθέτοντας 100 µl διαλύματος τερματισμού σε κάθε πηγαδάκι. Τα θετικά δείγματα γίνονται κίτρινα.

Καθαρίστε τα πηγαδάκια της μικροπλάκας από κάτω πριν από τη φωτομετρική ανάγνωση και φροντίστε να μην υπάρχουν φυσαλίδες αέρα στα πηγαδάκια.

Η ανάγνωση θα πρέπει να γίνει μέσα σε 15 λεπτά μετά την προσθήκη του διαλύματος τερματισμού.

5.B. ΠΙΝΑΚΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

	Κενό(A1)	Αρνητικός μάρτυρας	Θετικός μάρτυρας	Δείγμα
Διαλύτης δείγματος	50 µl	–	–	–
Αρνητικός μάρτυρας	–	50 µl	–	–
Θετικός μάρτυρας	–	–	50 µl	–
Δείγμα	–	–	–	50 µl
Επωάστε για 60 λεπτά στους 37 °C, πλύνετε 3 x με 200 µl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης				
Conjugate	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)
Επωάστε για 60 λεπτά στους 37 °C, πλύνετε 3 x με 200 µl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης				
TMB-Υπόστρωμα	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Επωάστε για 30 λεπτά στους 37 °C στο σκοτάδι				
Διάλυμα Τερματισμού	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Φωτομετρική ανάγνωση στα 450 nm (ref. 620 - 650 nm)				

*) χειροκίνητη/αυτόματη διαδικασία (δείτε 5.5.)

6.A. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ (ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ)

* Διαβάστε τις τιμές OD στα 450 nm (μήκος κύματος αναφοράς 620 – 650 nm).

* Εξάγετε την τιμή OD από το κενό (πηγαδάκι A1) από όλες τις άλλες OD τιμές.

* Η τιμή OD του κενού πρέπει να είναι **< 0,100.**

* Η μέση τιμή OD του **αρνητικού μάρτυρα** θα πρέπει να είναι **< 0,200.**

* Η τιμή OD του **Θετικού μάρτυρα** θα πρέπει να είναι **> 0,800.**

* **Cut-off = μέση τιμή OD του αρνητικού μάρτυρα + 0,320**

* **Γκρίζα ζώνη = Cut-off ± 10 %**

Επαναλάβετε την διαδικασία εάν τα αποτελέσματα είναι εκτός προδιαγραφών.

6.Β. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ:

6.Β.1. ΠΟΙΟΤΙΚΗ

Αποτέλεσμα	αξιολόγηση
OD < Γκρίζα ζώνη	αρνητικό
OD Cut-off ± 10 %	αμφίβολο
OD > Γκρίζα ζώνη	θετικό

6.Β.2. ΠΟΣΟΤΙΚΗ

Ο **τελικός τίτλος** (= τελευταία θετική ή οριακή αραίωση) κάθε δείγματος μπορεί να υπολογιστεί.

Αρχικά, θα πρέπει να υπολογιστεί το Cut-off.

$$\textbf{Cut-off Index} = \frac{\textbf{OD Δείγματος}}{\textbf{Cut-off}}$$

Δεύτερον, ο υπολογισμός του τελικός τίτλου μπορεί να γίνει με δύο τρόπους:

1. 1: τελικός τίτλος = 111 x (OD/Cut-off)

Το αποτέλεσμα πρέπει να στρογγυλοποιηθεί προς τα κάτω στο επόμενο χαμηλότερο βήμα πλήρους τίτλου, π.χ., στο 1:100, 1:200, 1:400, κ.λ.π.

Ο υπολογισμός αυτός είναι έγκυρος για τιμές OD ≤ 2,0. Δείγματα με τιμές OD > 2,0 θα πρέπει να επανεξετάζονται χρησιμοποιώντας μεγαλύτερη αρχική αραίωση (π.χ., 1:400).

Αν έχει χρησιμοποιηθεί αρχική διάλυση μεγαλύτερη από 1:100 η παραπάνω αναφερόμενη φόρμουλα θα πρέπει να πολλαπλασιάζεται με τον αντίστοιχο παράγοντα αραίωσης.

Παράδειγμα: Χρησιμοποιούμενη αραίωση δείγματος 1:400 σημαίνει τέσσερις φορές μεγαλύτερη αρχική αραίωση.

OD = 1,78
Cut-off = 0,42
1: τελικός τίτλος = 111 x (1,78/0,42) x 4 = 1882 ⇒ **1:1600**

2. Ο σχετικός τίτλος που αντιστοιχεί στο Cut-off μπορεί επίσης να προσδιοριστεί από τον παρακάτω πίνακα.

Cut-off	IgG	
	αποτέλεσμα	Τίτλος
< 0,9	αρνητικό	<1:100
0,9 - ≤ 1,1	αμφίβολο	
> 1,1 - ≤ 1,8	Θετικό	1:100
> 1,8 - ≤ 3,6	Θετικό	1:200
> 3,6 - ≤ 7,2	Θετικό	1:400

Ο υπολογισμός αυτός είναι έγκυρος μόνο για τιμές OD ≤ 2.0; σε άλλη περίπτωση δείτε το παραπάνω αναφερόμενο παράδειγμα.

6.C. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

6.C.1. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΑΥΞΗΓΣΕΙΣ ΤΙΤΛΟΥ

Για τη διάγνωση, πρόσφατων λοιμώξεων, επαναλοιμώξεων, αναζοπυρώσεων (σημαντική αύξηση του τίτλου) και διάκριση από τις εμμένουσες λοιμώξεις (σταθεροί τίτλοι αντισωμάτων) συνιστούμε κυρίως τη χρήση ζεύγους δειγματων. Θα πρέπει να λαμβάνονται με διαφορά 10 - 14 ημερών.

Τα παρακάτω κριτήρια έχουν περιγραφεί ως πιθανότητα για την αξιολόγηση σημαντικών αυξήσεων του τίτλου (Persson et al., Verkooyen et al.):

Τρεις φορές ή μεγαλύτερη αύξηση του τίτλου των
ειδικών IgG **ή** IgA αντισωμάτων
ή
δύο φορές ή μεγαλύτερη αύξηση του τίτλου των
ειδικών IgG **και** IgA αντισωμάτων
ή
Δύο φορές ή μεγαλύτερη αύξηση του τίτλου των
ειδικών IgM αντισωμάτων

6.C.2. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ IgG- και IgA

Πιθανά αποτελέσματα IgG	IgA	Ερμηνία
+	+	Ενδειξη ενεργού λοίμωξης. Περαιτέρω κρίση με βάση τα συμπτώματα και την πορεία του τίτλου.
+	-	Ενδειξη προηγούμενης λοίμωξης. Σε περίπτωση κλινικής υποψίας προσδιορίστε μία κατά τρεις φορές αύξηση του τίτλου IgG ανάμεσα σε δύο δείγματα ορού (διάστημα μεταξύ τους 10 - 14 ημέρες) και επανεξετάστε για IgA.
+	+/-	Πιθανότητα καινούργιας ή αναζοπυρωμένης λοίμωξης ή συμπληρωματικής λοίμωξης: επανεξετάστε τα IgG και IgA μετά από 10 - 14 ημέρες.
+/-	-	Δεν μπορεί να αποκλειστεί παλιά λοίμωξη. Σε περίπτωση κλινικής υποψίας επανεξετάστε τα IgG και IgA μετά από 10 - 14 ημέρες.
-	+	Πιθανότητα αρχόμενου σταδίου μίας ενεργού λοίμωξης ή μονήρης εμμονή των IgA (δείτε σ. 12). Επανεξετάστε τα IgA και IgG μετά από 10 - 14 ημέρες.
-	+/-	Πιθανότητα πολύ πρώιμου σταδίου μίας ενεργού φλεγμονής: επανεξετάστε τα IgG και IgA μετά από 10 - 14 ημέρες.
+/-	+	Πιθανότητα πρώιμου σταδίου ενεργού φλεγμονής. Επανεξετάστε τα IgG και IgA μετά από 10 - 14 ημέρες.
-	-	Καμιά ορολογική ένδειξη λοίμωξης. Σε περίπτωση δικαιολογημένης κλινικής υποψίας διενεργήστε άμεσο προσδιορισμό αντιγόνων και επανεξετάστε τα IgG και IgA μετά από 10 - 14 ημέρες.

* Τα αποτελέσματα IgG θα πρέπει πάντα να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τις IgA και IgM, την κλινική εικόνα και τις επιπλέον διαγνωστικές παραμέτρους.

* Δείγματα με τιμές OD μέσα στη γκρίζα ζώνη θα πρέπει να επανεξετάζονται μαζί με ένα φρέσκο δείγμα που λαμβάνεται 14 ημέρες αργότερα ώστε να προσδιοριστεί μια αλλαγή του τίτλου.

* Η υψηλή συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης και χολερυθρίνης δεν έχει επίδραση στα αποτελέσματα.

* Σπάνια, οι υψηλές συγκεντρώσεις λιπιδίων μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα.

* Οι διασταυρούμενες αντιδράσεις με αντισώματα έναντι του parvovirus B19 δε θα πρέπει να αποκλείονται σε εξατομικευμένες περιπτώσεις.

* Σε ορισμένες περιπτώσεις μεμονομένα αντισώματα IgA μπορεί να παραμείνουν σταθερά. Αυτό το ανοσολογικό φαινόμενο συμβαίνει σε διάφορες λοιμώξεις προερχόμενες από βακτήρια και ιούς. Η κλινική εικόνα δεν μπορεί να καθοριστεί.

Σχόλιο:
Σε περιπτώσεις νέων οξέων λοιμώξεων από χλαμύδια τα ορολογικά αποτελέσματα αντισωμάτων μπορεί να είναι αρνητικά παρά την θετικά κλινική εικόνα και την ανίχνευση αντιγόνων. Αν χρειάζεται επιβεβαίωση ενός ορολογικού θετικού αποτελέσματος ή αν χρειάζεται παρακολούθηση συνιστούμε την εξέταση μετά από 10 – 14 ημέρες για εύρεση ορομετατροπής.

7. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Τα παρακάτω χαρακτηριστικά λειτουργία προσδιορίστηκαν κατά τη διαγνωστική αξιολόγηση.

7.A. ΕΠΙΚΡΑΤΗΣΗ

Οροί από διάφορες κατηγορίες ασθενών(θετικές καλλιέργειες, -αρνητικοί STD ασθενείς, εκδιδόμενες γυναίκες, στείρες γυναίκες, στείροι άντρες, ασθενείς με ρευματικά νοσήματα, ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια [ΧΑΠ]), και μάρτυρες (έγκυες γυναίκες, 2 ομάδες αιμοδότες) ερευνήθηκαν για τον προσδιορισμό της **επικράτησης του αντισώματος LPS.**

Κατηγορίες	**Επικράτηση**		
	IgG	**IgA**	**IgM**
STD ασθενείς με θετική καλλιέργεια (medac-internal investigators)	**67 % (88/132)**	**56 % (74/132)**	**14 % (18/132)**
STD ασθενείς με αρνητική καλλιέργεια (medac-internal investigations)	**33 % (41/125)**	**13 % (16/125)**	**2 % (3/125)**
Εκδιδόμενες γυναίκες (Schmitz et al.)	**86 % (255/295)**	**48 % (141/295)**	**21 % (63/295)**
Στείρες γυναίκες (Schmitz et al.)	**75 % (62/83)**	**45 % (37/83)**	**10 % (8/83)**
Στείροι άνδρες (Schmitz et al.)	**71 % (144/203)**	**35 % (71/203)**	**9 % (18/203)**
Ασθενείς με ρευματικά νοσήματα (medac-internal investigations)	**83 % (158/191)**	**63 % (120/191)**	**7 % (13/191)**
COPD ασθενείς (Verkooyen et al. 1998)	**53 % (144/271)**	**32 % (88/271)**	**3 % (9/271)**
Έγκυες γυναίκες (medac-internal investigations)	**32 % (62/192)**	**17 % (32/192)**	**8 % (16/192)**
Αιμοδότες ομάδας 1 (Verkooyen et al. 1998)	**29 % (325/1104)**	**n.d***	**n.d***
Αιμοδότες ομάδας 2 (medac-internal investigations)	**37 % (154/416)**	**13 % (54/416)**	**3 % (6/240)**

*: n.d = δεν προσδιορίζεται

7.B. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Δείγμα	Διακύμανση intra-assay				Δείγμα	Διακύμανση inter-assay (n = 11)		
	∅ OD	SD	CV (%)	n		∅ OD	SD	CV (%)
NC	0,123	0,010	8	24	**NC**	0,109	0,015	14
BC	0,431	0,021	5	24	**BC**	0,431	0,027	6
PC	1,419	0,050	4	24	**PC**	1,417	0,071	5
N° 1	0,398	0,012	3	23	**N° 3**	0,567	0,034	6
N° 2	2,224	0,094	4	24	**N° 4**	1,960	0,086	4

NC = Αρνητικός Μάρτυρας BC = Ασθενώς Θετικός Μάρτυρας (δεν περιλαμβάνεται στο κιτ) PC = Θετικός Μάρτυρας

ΓΕΝΙΚΕΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΧΕΙΡΙΣΜΟ

* Μην ανταλλάσσετε τα φιαλίδια ή τα βιδωτά καπάκια τους για να αποφύγετε την επιμόλυνση του ενός από το άλλο.
* Τα αντιδραστήρια θα πρέπει να σφραγίζονται αμέσως μετά τη χρήση ώστε να αποφευχθεί η εξάτμιση και η μικροβιακή τους επιμόλυνση.
* Μετά τη χρήση, τα αντιδραστήρια θα πρέπει να φυλάσσονται κάτω από τις συνθήκες που συνιστώνται ώστε να διατηρηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης.
* Μετά τη χρήση, όλα τα περιεχόμενα του κιτ εξέτασης θα πρέπει να φυλάσσονται στην αρχική συσκευασία, για να αποφευχθεί το ανακάτεμα τους με αντιδραστήρια άλλων συστημάτων εξέτασης ή άλλων παρτίδων (δείτε επίσης 3.).

ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΣΦΑΛΕΙΑ

* Οι τοπικοί επαγγελματικοί κανονισμοί για την υγεία και την ασφάλεια θα πρέπει να γίνονται σεβαστοί.
* Τα αντιδραστήρια ανθρώπινης προέλευσης έχουν εξεταστεί και βρέθηκε ότι είναι αρνητικά για HBsAg, για αντισώματα έναντι του HIV-1/2 και για HCV. Ωστόσο, συνίσταται αυτά τα υλικά καθώς και εκείνα που είναι ζωικής προέλευσης(δείτε τα περιεχόμενα του κιτ), θα πρέπει να τα χειρίζεστε ως δυνητικά μολυσματικά και να λαμβάνετε όλα τα απαραίτητα μέσα προστασίας.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ

Τα υπολείμματα χημικών και παρασκευασμάτων θεωρούνται γενικά επικίνδυνα απόβλητα. Η απαλλαγή από το είδος αυτό των αποβλήτων ρυθμίζεται από εθνικούς και τοπικούς νόμους και κανονισμούς. Επικοινωνήστε με τις τοπικές αρχές ή με εταιρίες διαχείρισης αποβλήτων που θα σας δώσουν συμβουλές σχετικά με το πώς να απαλλαγείτε από επικίνδυνα απόβλητα.

Ημερομηνία Έκδοσης: 01.04.2018

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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.: Occurence of antibodies against chlamydial lipopolysaccharide in human sera as measured by ELISA using an artifical 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, C.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. Societá 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: Stary, A. (ed.): Proc. Europ. Soc. Chlamydia Res., Societá 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).