Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA 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

Chlamydia trachomatis–IgA–pELISA medac

Ενζυμική ανοσολογική δοκιμασία για την ανίχνευση των IgA αντισωμάτων έναντι του ***Chlamydia trachomatis*** σε ορο, πλασμα και σπερματικο πλασμα

Cat. no.: 498–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 και λείες μυϊκές ίνες. 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 ***C. trachomatis*** είναι ένας από τους συχνότερους παράγοντες που προκαλούν σεξουαλικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις του ουρογεννητικού συστήματος και του οφθαλμού. Κατά τον τοκετό, το ***C. trachomatis*** ενδέχεται να μεταδοθεί στο βρέφος και να προκαλέσει νεογνική επιπεφυκίτιδα και πνευμονία.

Το ***C. trachomatis*** υποδιαιρείται σε 19 ορότυπους με διαφορετικές κλινικές εκδηλώσεις. Οι ορότυποι A–C ευθύνονται για το ενδημικό τράχωμα, μία οφθαλμική πάθηση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε τύφλωση. Στις αναπτυσσόμενες χώρες προσβάλλει εκατοντάδες εκατομμυρίων ανθρώπων. Το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα, μια σεξουαλικά μεταδιδόμενη νόσος των τροπικών χωρών, είναι το αποτέλεσμα της μόλυνσης από τους ορότυπους L_1–L_3. Στις βιομηχανικές χώρες οι ορότυποι D–K ευθύνονται για τις πιο συχνά σεξουαλικά μεταδιδόμενες οφθαλμο–γεννητικές λοιμώξεις.

Στις γυναίκες, οι περισσότερες λοιμώξεις που οφείλονται στο ***C. trachomatis*** είναι ασυμπτωματικές. Το αποτέλεσμα είναι πολλές χρόνιες επιμένουσες παθήσεις οι οποίες οφείλονται σε ανερχόμενους, εμμένοντες παράγοντες. Το αρχικό σημείο των λοιμώξεων είναι συνήθως ο τράχηλος και κλινικά η λοίμωξη εκδηλώνεται με τη μορφή τραχηλίτιδας. Η ουρηθρίτιδα είναι λιγότερο συχνή στις γυναίκες. Μεταξύ της εκδήλωσης

της πρωτογενούς λοίμωξης και της εμφάνισης των χρόνιων επακόλουθων συχνά μεσολαβούν μήνες ή ακόμη και χρόνια.

Στις γυναίκες, οι χρόνιες κυρίως ασυμπτωματικές λοιμώξεις που οφείλονται στο ***C. trachomatis*** ενδέχεται να προκαλέσουν ενδομητρίτιδα, εξαρτηματίτιδα, περισκωληκοειδίτιδα, περιηπατίτιδα, περιτονίτιδα και αντιδραστική αρθρίτιδα. Αυτή η μορφή αρθρίτιδας προσβάλλει επίσης και τους άνδρες και είναι γνωστή ως μετα–υορηθρητιδική αντιδραστική αρθρίτιδα.

Η επαναλαμβανόμενη εξαρτηματίτιδα συχνά οδηγεί σε στειρότητα. Στους άνδρες, οι ανερχόμενες λοιμώξεις που έπονται της ασυμπτωματικής ουρηθρίτιδας μπορεί να προκαλέσουν επιδιδυμίτιδα και προστατίτιδα. Οι σχετιζόμενες λοιμώδεις διαδικασίες ενδέχεται να επηρεάσουν αρνητικά την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και της ακροσωμιακής αντίδρασης, γεγονός που προκαλεί μείωση της γονιμότητας.

Τα περιφερειακά παθογόνα ***C. trachomatis*** μπορούν να ανιχνευθούν με εργαστηριακές μεθόδους υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας όπως οι ELISA, IFT, PCR και LCR. Οι δύο τελευταίες μέθοδοι που είναι υψηλής ευαισθησίας χρησιμοποιούνται επίσης και για την ανίχνευση των παθογόνων στο σπέρμα. Η παρουσία αναστολέων PCR/LCR συχνά οδηγεί στη λήψη ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. Η κλασική απομόνωση των παθογόνων από καλλιέργεια κυττάρων είναι προβληματική εξαιτίας της παρουσίας τοξικών ουσιών στο σπέρμα. Αυτό οδηγεί επίσης στη λήψη ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

Μία πιθανότητα αντιμετώπισης αυτών των μειονεκτημάτων, βασίζεται στην ανίχνευση της εκκριτικής IgA έναντι του ***C. trachomatis*** στο σπερματικό υγρό. Ως αρχική ανοσολογική απάντηση στην επαφή με το παθογόνο, ο γεννητικός βλεννογόνος παράγει εκκριτική IgA έναντι του ***C. trachomatis***.

Σε ορισμένες περιπτώσεις η παραγωγή της εκκριτικής IgA εμφανίζεται ως η μόνη ανοσολογική απάντηση, γεγονός που υποδεικνύει ότι η διαδικασία περιορίζεται τοπικά. Επιπλέον, η παρουσία ανιχνεύσιμων αντισωμάτων στον ορό υποδηλώνει τη συστηματική εξάπλωση της λοίμωξης.

Τα χλαμύδια περιέχουν συνήθη ανοσοκυρίαρχα αντιγόνα, όπως ο ειδικός ως προς το γένος λιποπολυσακχαρίτης (LPS). Για τη διενέργεια ορολογικού προσδιορισμού ειδικού ως προς το είδος, απαιτούνται ανοσογονικές δομές ειδικές ως προς το ***C. trachomatis***. Οι δομές αυτές εντοπίζονται στις μεταβλητές περιοχές της κύριας πρωτεΐνης της εξωτερικής μεμβράνης (MOMP).

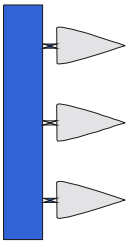
Έως σήμερα, η εξέταση μικροανοσοφθορισμού (MIF) θεωρείται ως το λεγόμενο "χρυσό πρότυπο" του ειδικού ως προς το είδος ορολογικού προσδιορισμού. Τα MIF αντιγόνα αποτελούνται από κεκαθαρμένα καθηλωμένα ολικά στοιχειώδη σωμάτια. Επομένως δεν μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα διασταυρούμενης αντιδραστικότητας μεταξύ των ειδών.

Η **Chlamydia trachomatis–pELISA medac** χρησιμοποιεί ένα συνθετικό πεπτίδιο από την ανοσοκυρίαρχη περιοχή της MOMP. Με αυτό το υψηλά

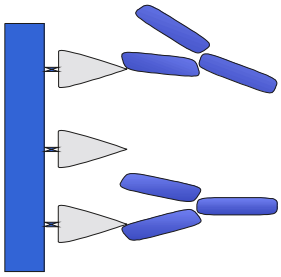
εξειδικευμένο αντιγόνο επιτυγχάνεται η υψηλής ειδικότητας διάκριση της απάντησης των αντισωμάτων έναντι του ***C. trachomatis*** από εκείνη του ολικού αντισώματος έναντι των χλαμυδίων.

Στις λοιμώξεις με χρόνια κυρίως πορεία, η προτιμώμενη μέθοδος είναι ο ορολογικός προσδιορισμός. Σε αυτή τη μέθοδο αποφασιστικό ρόλο παίζει η ανίχνευση των IgA αντισωμάτων σε συνδυασμό με τα IgG αντισώματα. Επίσης, η ορολογική μέθοδος ενδείκνυται ως πρόσθετη μέθοδος διάγνωσης πιθανολογούμενων περιφερειακών λοιμώξεων από ***C. trachomatis*** καθώς και για μεταθεραπευτική παρακολούθηση.

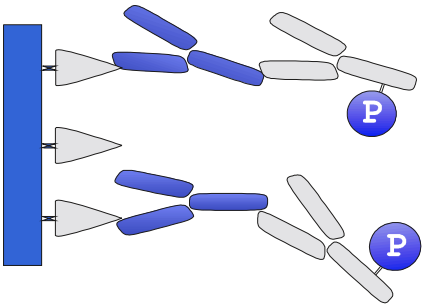
ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ



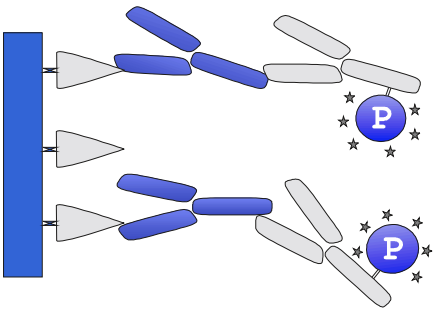
Η πλάκα φέρει επικάλυψη με συνθετικό πεπτίδιο ειδικό ως προς το ***C. trachomatis.***



Τα αντισώματα έναντι του ***C. trachomatis*** που υπάρχουν στο δείγμα συνδέονται στο αντιγόνο.



Η συζευγμένη υπεροξειδάση των αντι–ανθρώπινων IgA αντισωμάτων συνδέεται στα αντισώματα IgA (P = υπεροξειδάση).



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

Πλεονεκτήματα της εξέτασης

- ☞ Δεν λαμβάνονται ψευδώς θετικά αποτελέσματα εξαιτίας διασταυρούμενης αντιδραστικότητας από άλλα χλαμύδια.
- ☞ Μη μολυσματικό αντιγονικό υλικό.
- ☞ Χημικά καθορισμένη δομή αντιγόνου.
- ☞ Οι διαχωριζόμενες ταινίες μικρο–υποδοχών επιτρέπουν την αποδοτική χρήση της εξέτασης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΟΥ ΚΙΤ
Cat. no.: 498-TMB

1. **MTP**
   Μικροπλάκα: 12 x 8 υποδοχές (τυπωμένο με **CTA**, με πλαίσιο και ξηραντικό, σφραγισμένες σε αλουμινένια σακούλα υπό κενό αέρος), διαχωριζόμενες,, σχήματος U, με επικάλυψη από συνθετικό πεπτίδιο και NBCS έναντι του ***C. trachomatis***, έτοιμες προς χρήση.

2. **CONTROL** **-**
   Αρνητικός μάρτυρας: 1 φιαλίδιο 1,5 ml, ανθρώπινος ορός, έτοιμος για χρήση, χρωματισμένος κυανός που, περιέχει NBCS, φαινόλη, ProClin™ 300 και gentamycin sulfate.

3. **CONTROL** **+**
   Θετικός μάρτυρας: 1 φιαλίδιο 1,5 ml, ανθρώπινος ορός, έτοιμος για χρήση, χρωματισμένος κυανός που, περιέχει BSA, φαινόλη, ProClin™ 300 και gentamycin sulfate.

4. **WB**
   Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης: 1 φιαλίδιο με 100 ml PBS/Tween (10x), pH 7,2 – 7,4, περιέχει ProClin™ 300.

5. **BAC-DIL**
   Διαλύτης δείγματος: 1 φιαλίδιο με 110 ml PBS/Tween/NBCS, pH 7,0 – 7,2, έτοιμο για χρήση, χρωματισμένο κυανό, περιέχει ProClin™ 300.

6. **CON**
   Σύμπλοκο: 3 φιαλίδια με 4,5 ml έκαστο, αντι-ανθρώπινα IgA αίγας, HRP-συζευγμένα, έτοιμο για χρήση, χρωματισμένο κίτρινο, περιέχει BSA, φενόλη, ProClin™ 300 και gentamycin sulfate.

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. 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	12 εβδομάδες
Μάρτυρες	ανοιγμένο	2...8 °C	12 εβδομάδες
Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης	αραιωμένο	2...8 °C	12 εβδομάδες
Διαλύτης δείγματος	ανοιγμένο	2...8 °C	12 εβδομάδες
Σύμπλοκο	ανοιγμένο	2...8 °C	12 εβδομάδες
TMB–Υπόστρωμα	ανοιγμένο	2...8 °C	12 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. Μικροπιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου.

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.

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, σύμπλοκο)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.

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, EDTA πλασμα και σπερματικο πλασμα.
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 επιμολυσμένοι με μικροοργανισμούς ούτε να περιέχουν ερυθρά αιμοσφαίρια.

4.3. Οροι η EDTA/πλασμα θα πρέπει να αραιωθούν 1:50 με το διαλύτη δείγματος. Μπορούν να αραιωθούν περαιτέρω για τον προσδιορισμό του τίτλου.

4.4. Το σπέρμα θα πρέπει να φυγοκεντρηθεί επί 15 min στα 600 xg. Για τη διαδικασία της εξέτασης χρησιμοποιείται το υπερκείμενο (σπερματικό υγρό).

4.5. Το σπερματικό υγρό αραιώνεται 1:10 με 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.

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 σύμπλοκο (κίτρινο χρώμα) σε κάθε πηγαδάκι.

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

Παρακαλώ σημειώστε:
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.Β. ΠΙΝΑΚΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

	Κενό(Α1)	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				
Σύμπλοκο	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.Α. 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 Α1) 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 **< 0,100.**

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

Cut–off για Ορο και EDTA πλασμα

* **Cut–off = μέση τιμή OD του αρνητικού μάρτυρα + 0,270**

* **Γκρίζα περιοχή = Cut–off ± 10 %**

Cut–off για σπερματικο πλασμα

* **Cut–off = μέση τιμή OD του αρνητικού μάρτυρα + 0,05**

* **Γκρίζα περιοχή = 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. ΗΜΙΠΟΣΟΤΙΚΗ

Cut–off–Index: $\frac{\text{OD Δείγματος}}{\text{Cut–off}}$	Αξιολόγηση
< 0,9	αρνητικό
0,9 – 1,1	αμφίβολο
> 1,1	θετικό

* 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.

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

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

6.C. ΕΙΔΙΚΗ IgG/IgA ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΡΟΛΟΓΙΑ

Πιθανά αποτελέσματα IgG	IgA	Ερμηνεία
+	+	Ενδειξη ενεργούς λοίμωξης. Περαιτέρω κρίση με βάση τα συμπτώματα και την πορεία του τίτλου.
+	–	Ενδειξη προηγούμενης λοίμωξης. Σε περίπτωση που κλινικά πιθανολογείται λοίμωξη, εξετάστε για τετραπλάσια αύξηση του τίτλου IgG μεταξύ των δύο δειγμάτων ορού και κατόπιν επανεξετάστε για IgA.
+	+/–	Πιθανότητα καινούργιας ή αναζοπυρωμένης λοίμωξης ή συμπληρωματικής λοίμωξης: επανεξετάστε το 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. 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.

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.

6.D. ΕΙΔΙΚΗ IgA ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΣΠΕΡΜΑΤΙΚΟ ΥΓΡΟ

Πιθανά Αποτελέσματα			**Ερμηνεία**
Ορός/ πλασμα IgG	**IgA**	**Σπερματικό υγρό IgA**	
–	–	+	Ένδειξη τοπικά περιορισμένης λοίμωξης από ***C. trachomatis***.
–	+	+	Ένδειξη έναρξης της εξάπλωσης της λοίμωξης από ***C. trachomatis***.
–	+	–	Ένδειξη πρώιμου σταδίου εξάπλωσης της λοίμωξης από ***C. trachomatis*** ή μεμονωμένης επιμένουσας IgA.
+	+	+	Θετικές οι IgG και IgA του ορού καθώς και η IgA του σπερματικού υγρού. Ένδειξη εξάπλωσης της λοίμωξης από ***C. trachomatis***.
+	–	+	Ένδειξη εξάπλωσης της λοίμωξης από ***C. trachomatis***.
+	+	–	Ένδειξη προχωρημένης εξάπλωσης της λοίμωξης από ***C. trachomatis***.
+	–	–	Ένδειξη παρελθούσης λοίμωξης από ***C. trachomatis***.
–	–	–	Καμία ορολογική ένδειξη επιμόλυνσης από ***C. trachomatis***.

7. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Τα παρακάτω χαρακτηριστικά λειτουργίας προσδιορίστηκαν κατά τη διαγνωστική αξιολόγηση.

7.Α. ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Για τον προσδιορισμό της ειδικότητας, εξετάστηκαν δείγματα ορού από παιδιά ηλικίας < 10 ετών και ασθενείς με ορολογικά αποδεδειγμένη (MIF) λοίμωξη από ***C. pneumoniae***.
Για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας/του επιπολασμού, εξετάστηκαν οροί από τρεις διαφορετικές ομάδες ασθενών.

Ομάδα ασθενών		**Ειδικότητα**	
		IgA	**IgG**
Παιδιά < 10 ετών		**98% (n=100)**	**99% (n=100)**
Ασθενείς με λοίμωξη από *C. pneumoniae* (θετικοί με εξέταση MIF)		**100% (n=47)**	**100% (n=47)**
		Ευαισθησία / Επιπολασμός	
STD καλλιέργειες ασθενών αρνητικές για *C.trachomatis*	***C.trachomatis*-pELISA**	**6,2% (n=112)**	**25,0% (n=96)**
	MIF	**3,6% (n=112)**	**27,1% (n=96)**
STD καλλιέργειες ασθενών θετικές για *C.trachomatis*	***C.trachomatis*-pELISA**	**24,6% (n=114)**	**65,1% (n=106)**
	MIF	**20,2% (n=114)**	**67,0% (n=106)**
Αιμοδότες	***C.trachomatis*-pELISA**	**6,4% (n=299)**	**15,1% (n=299)**
Ασθενείς με αρθρίτιδα[1]	***C.trachomatis*-pELISA**	**41,0% (n=83)**	**48,2% (n=83)**

[1]Τα δείγματα ορού προεπιλέχθηκαν με βάση το θετικό ως προς την IgG αποτέλεσμα της ειδικής ως προς το γένος εξέτασης Chlamydien rELISA.

7.Β. ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ

Για την εκτίμηση του επιπολασμού του ***C. trachomatis*** συγκρίθηκαν τα IgA αντισώματα στο σπερματικό υγρό και στα αντίστοιχα δείγματα ορού μεταξύ δωρητών σπέρματος (άνδρες χωρίς πρόβλημα γονιμότητας) και ανδρών με πρόβλημα γονιμότητας.

	Επιπολασμός IgA του *C. trachomatis** **ασυμπτωματικοί άνδρες**	
	δωρητές σπέρματος (n=116)	**άνδρες με πρόβλημα γονιμότητας (n=171)**
Σπερματικό υγρό	**9,5%****	**26,9%****
Ορός	**5,2%**	**12,3%**

* Schuppe et al. 2000
** $p < 0,05$

Άνδρες με πρόβλημα γονιμότητας
Συσχέτιση μεταξύ της IgA του ορού και της IgA του σπερματικού υγρού

		IgA Σπερματικού υγρού		
		+	**–**	
IgA Ορού	**+**	**15**	**6**	**21 (12,3%)**
	–	**31**	**119**	
		46 (26,9%)		**171**

Δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των τίτλων IgA ορού και σπερματικού υγρού ($p < 0,001$).

7.C. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Δείγμα	Διακύμανση Intra-Assay				Δείγμα	Διακύμανση Inter-Assay (n = 13)		
	Ø OD	SD	CV (%)	n		Ø OD	SD	CV (%)
NC	0,037	0,007	18,9	21	**NC**	0,029	0,003	10,3
BC	0,336	0,015	4,5	21	**BC**	0,314	0,025	8,0
PC	1,346	0,062	4,6	21	**PC**	1,262	0,069	5,5
N° 1	0,144	0,014	9,7	21	**N° 3**	0,112	0,009	8,0
N° 2	0,818	0,050	6,1	24	**N° 4**	0,633	0,048	7,6

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: 01.04.2016

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Christiansen, G., Pedersen, L., Clausen, J.D., Birkelund, S.: Cell and molecular biology of Chlamydia. In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11.-14. September. pp. 3-6 (1996).

DeSchreyer, A., Meheus, A.: Epidemiology of sexually transmitted diseases: The global picture. Bull. World Health Organization 68, 639-654 (1990).

Hoyme, U.B., Spitzbart, H.: Past and current prevalence of ***Chlamydia trachomatis*** in women in Germany. In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria 11-14 September. p. 391 (1996).

Keck, C., Gerber-Schafer, C., Clad, A., Wilhelm, C., Breckwoldt, M.: Seminal tract infections: Impact on male fertility and treatment options. Hum. Reprod. Update 4, 891-903 (1998).

Köhler, M., Jendro, C. (1997): 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).

Nickel, J.C.: Chronic Prostatitis: An infectious disease? Infect. Urol. 13, 31-38 (2000).

Ochsendorf, F.R., Ozdemir, K., Rabenau, H., Fenner, T., Oremek, R., Milbradt, R., Doerr, H.W.: ***Chlamydia trachomatis*** and male infertility: Chlamydia-IgA antibodies in seminal plasma are ***C. trachomatis*** specific and associated with an inflammatory response. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 12, 143-152 (1999).

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).

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

Petersen, E.E., Clad, A., Mendel, R., Prillwitz, J., Hintz, K.: Prevalence of chlamydial infections in Germany: Screening of asymptomatic women and men by testing first void urine by ligase chain reaction (LCR). In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11-14 September. p. 415 (1996).

Saikku, P.: Diagnosis of acute and chronic ***Chlamydia pneumoniae*** infections. In: Chlamydial Infections. Orfila, J., Byrne, G.I., Chernesky, M.A., Grayston, J.T., Jones, R.B., Ridgway, G.L., Saikku, P., Schachter, J., Stamm, W.E., Stephens, R.S. (eds.). Proceedings of the Eighth International Symposium on Human Chlamydial Infections, Chateau de Montvillargenne, 60270 Gouvieux-Chantilly, France, 19-24 June. p. 163-170 (1994).

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

Schachter, J.: Evolution of diagnostic tests for ***Chlamydia trachomatis*** infections. In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11-14 September. pp. 243-146 (1996).

Schuppe, H.C., Bispink, G., Peet, D.J., Propping, D.,Böttcher, M., Dettlaff, S.: The significance of antibodies against ***C. trachomatis*** in seminal plasma. IVth European Chlamydia Congress, 2000 Helsinki.

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).

Wolff, H.: The biologic significance of white blood cells in semen. Fertil. Steril. 63, 1143-1157 (1995).

Wolff, H., Neubert, U., Zebhauser, M., Bezold, G., Korting, H.C., Meurer, M.: ***Chlamydia trachomatis*** induces an inflammatory response in the male genital tract and is associated with altered semen quality. Fertil. Steril. 55, 1017-1019 (1991).

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