



# Detektion von *Chlamydia trachomatis*

Dr. Claudia Mönchmeier

Institut für gentechnische Untersuchungen Dr. Stangassinger GmbH

Dornbirn

# Chlamydia trachomatis

eine der häufigsten sexuell übertragenen Erreger

- ▶ meist symptomlos
- ▶ Symptome: Ausfluss, Brennen bzw. Juckreiz, unbehandelt auch Unfruchtbarkeit
- ▶ Übertragung während der Geburt → Erblindung
- ▶ dreifach höhere Ansteckungsrate bei 14-24 Jährigen als bei 25-39
- ▶ Behandlung mittels Antibiotika



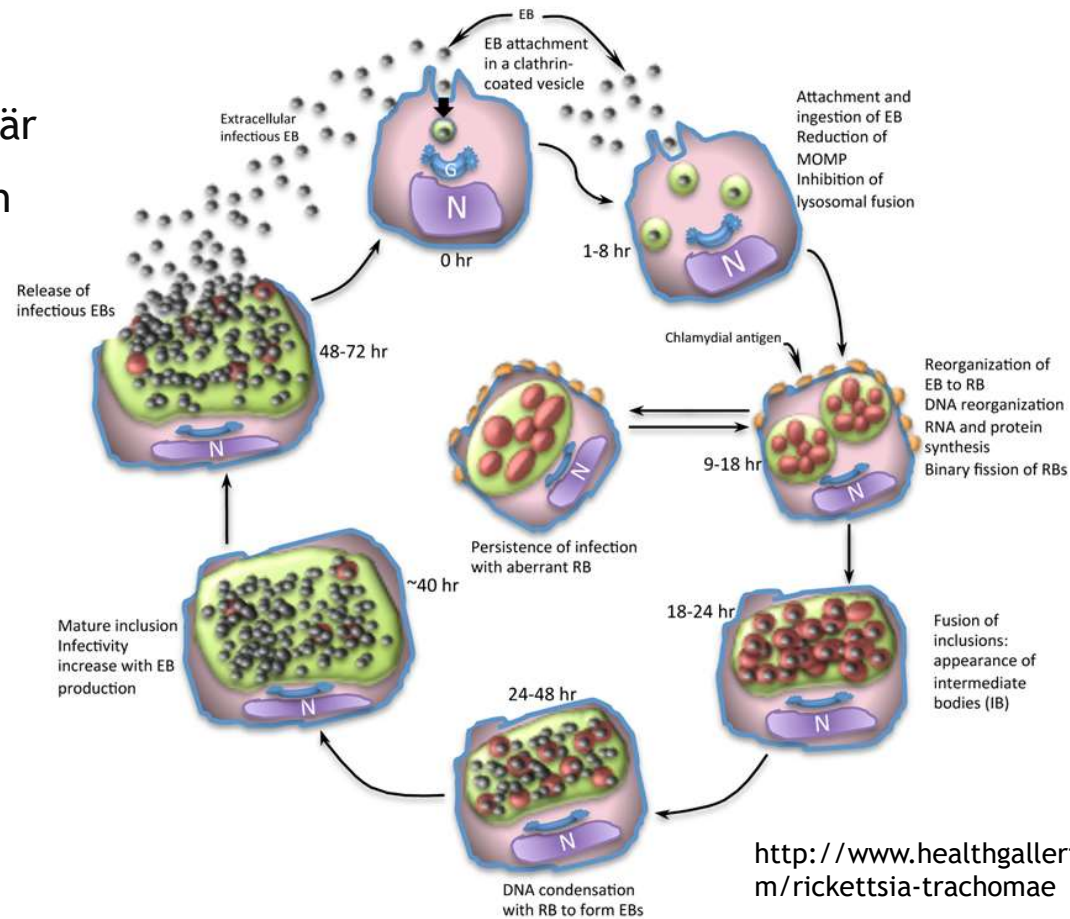
Chlamydia trachomatis

Quelle: [ilovebacteria.com](http://ilovebacteria.com)

# Chlamydia trachomatis

eine der häufigsten sexuell übertragenen Erreger

- ▶ obligat intrazellulär
- ▶ Persistenz möglich



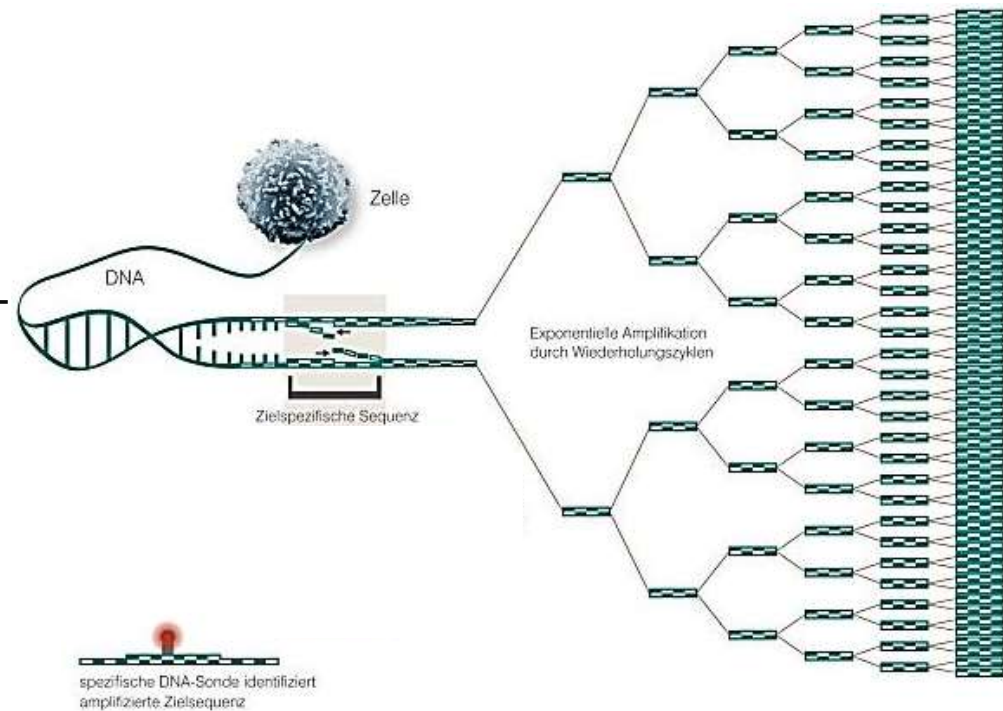
<http://www.healthgalleries.com/rickettsia-trachomae>

# Diagnostik

- ▶ Mikroskopische Indikation mit Iod-Färbung der EK bzw. RK
- ▶ Kultivierung möglich mit Zellkulturen - schwierig und zeitaufwändig
- ▶ Serumanalyse von Chlamydien-AK
- ▶ Molekularbiologisch - einfach, schnell und genau

# Diagnostik mittels PCR

- ▶ DNA-Isolierung  
(von lebenden und nicht-lebenden Material)



- ▶ Polymerase Chain Reaction (PCR)
- ▶ Fluoreszenzmarkierte spezifische Sonde
- ▶ Real Time PCR
- ▶ Schmelzkurve

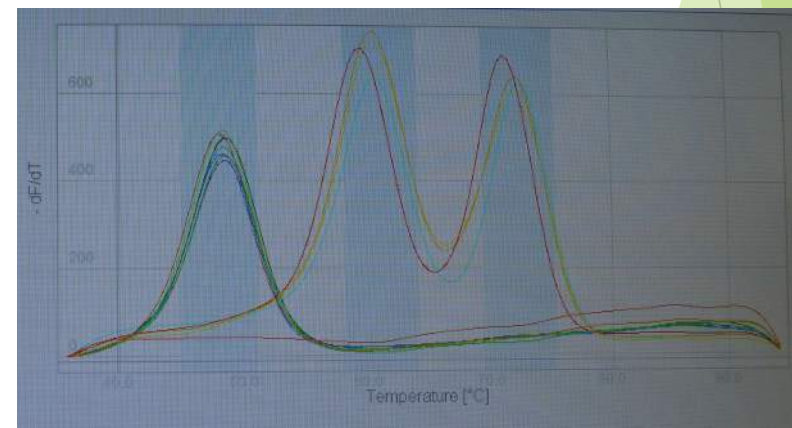
# Fluoro-Type CT von HAIN

- ▶ Urin, Zervikalabstriche und Ejakulat
- ▶ Eigenes DNA-Isolierungskit empfohlen (FluoroLyse/GenoXtract)  
-> gleiche Isolierung auch für FluoroType NG und MTB einsetzbar
- ▶ DNA - bei -20°C Monate haltbar

# Fluoro-Type CT von HAIN

- ▶ Nutzung des Cyclers von HAIN (FluoroCycler) und der PCR-Reaktionsgefäße (nur Sarstedt)
- ▶ 3 Reaktionszutaten: 3µl AM-A, 7µl AM-B, 6 µl DNA (Lagerung vor der Nutzung bei -20°C)
- ▶ Schmelzkurvenanalyse - automatisch interpretiertes Ergebnis in PDF-Format
- ▶ Alle Daten (Datum, Laufname, Probeninfo, Kurven, Interpretation) im Ergebnisbericht

Col	Name	Type	Result
1	001	Unknown	No CT DNA detected
2	002	Unknown	No CT DNA detected
3	003	Unknown	No CT DNA detected
4	004	Unknown	CT DNA detected
5	005	Unknown	No CT DNA detected
6	006	Unknown	No CT DNA detected
7	007	Unknown	No CT DNA detected
8	008	Unknown	CT DNA detected
9	009	Unknown	CT DNA detected
10	010	Unknown	No CT DNA detected
11	neg	Negative	Invalid
12	pos	Positive	Positive control valid



# Fluoro-Type CT von HAIN

- ▶ Sensitivität: 100%; Spezifität: 97,3%
- ▶ Hemmstoffe: Guanidinthiocyanat, DTT, EtOH u.a.
- ▶ Leicht zu hohe DNA-Konzentrationen und daher Wiederholung mit verdünnter DNA
- ▶ CE / IVD

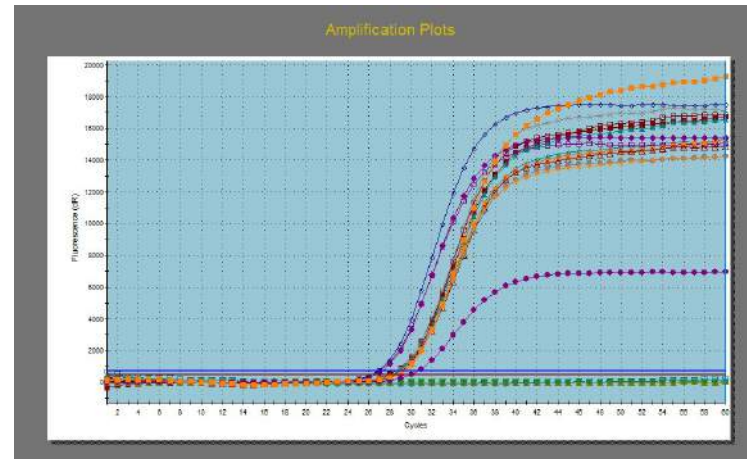


# RealLine Chlamydia trachomatis von BIORON

- ▶ Urin, Zervikal- bzw. Analabstriche, Speichel und Ejakulat
- ▶ Eigenes DNA-Isolierungskit empfohlen (RealLine DNA-Express) -  
> gleiche Isolierung auch für sämtliche STD-Kits der Firma einsetzbar, andere Kits mit extra Interner Kontrolle verwendbar
- ▶ DNA-Analyse innerhalb von 24 h

# RealLine Chlamydia trachomatis von BIORON

- ▶ RealTime PCR geeignetes Material und - Maschine (FAM und ROX-Kanal)
- ▶ 2 Reaktionszutaten: 25 µl Mastermix, 25 µl DNA (Lagerung vor Nutzung bei 4-8°C)
- ▶ RealTime PCR-Maschinenabhängige Auswertung durch Fachpersonal
- ▶ Mögliche Dokumentierung ausgewählter Daten in PowerPoint oder Text-Datei



Well Name	Dye	Well Type	Threshold (dR)	Ct (dR)	Final Call (dR)
001	ROX	Unknown	487.617	No Ct	-
001	FAM	Unknown	717.036	28.60	+
002	ROX	Unknown	487.617	No Ct	-
002	FAM	Unknown	717.036	28.99	+
003	ROX	Unknown	487.617	No Ct	-
003	FAM	Unknown	717.036	28.84	+
004	ROX	Unknown	487.617	26.47	+
004	FAM	Unknown	717.036	29.38	+
005	ROX	Unknown	487.617	No Ct	-
005	FAM	Unknown	717.036	29.16	+
006	ROX	Unknown	487.617	No Ct	-
006	FAM	Unknown	717.036	28.95	+
007	ROX	Unknown	487.617	No Ct	-
007	FAM	Unknown	717.036	28.93	+
008	ROX	Unknown	487.617	26.73	+
008	FAM	Unknown	717.036	29.50	+
009	ROX	Unknown	487.617	26.31	+
009	FAM	Unknown	717.036	29.17	+
010	ROX	Unknown	487.617	No Ct	-
010	FAM	Unknown	717.036	28.78	+
1 neg	ROX	ROX Negative Control	487.617	No Ct	-
1 neg	FAM	ROX Negative Control	717.036	No Ct	-
2 pos	ROX	ROX Positive Control	487.617	30.11	+
2 pos	FAM	ROX Positive Control	717.036	29.17	+

# RealLine Chlamydia trachomatis von BIORON

- ▶ Sensitivität: 100%; Spezifität: 100%
- ▶ Hemmstoffe: nicht im Manual beschrieben
- ▶ CE / IVD

# Vergleich der beiden Testsysteme

- ▶ Zertifizierung (CE / IVD)
- ▶ Zuverlässigkeit (Sensitivität / Spezifität)
- ▶ Geschlossenes System - keine weiterführende Kontamination

# Vergleich der beiden Testsysteme

	FluoroType CT	RealLine
Firma	HAIN	BIORON
DNA-Isolierung	2 vorgeschlagene Kits →DNA bei -20° C Monate	1 empfohlener Kit, andere möglich →DNA innerhalb von 24 h analysieren
Biolog. Material	Urin, Zervikalabstriche und Ejakulat	Urin, Zervikal- bzw. Analabstriche, Speichel und Ejakulat
Maschine	FluoroCycler	RealTime PCR-Gerät mit FAM- und ROX-Kanal
Analyse der PCR	Schmelzkurve	RealTime PCR
Auswertung	Automatisch, bereits interpretiert, Kontrolle notwendig	Kurvenbetrachtung, interne Kontrolle und CT-DNA
Erweiterung	FluoroType NG	Sämtliche STD von RealLine

# Institut für gentechnische Untersuchungen Dr. Stangassinger GmbH



DANKE