

Chlamydien sind bakterielle, intrazellulär lebende Energieparasiten, die Krankheiten mit unterschiedlich schwerem Verlauf hervorrufen. Für eine gezielte Behandlung akuter Infektionen ist eine schnelle, sensitive und direkte Identifizierung notwendig. Hierfür werden zunehmend DNA-basierte Nachweisverfahren eingesetzt. Mit dem ArrayTube-System, einer Biochip-basierten Plattform, ist der parallele und einfache Nachweis aller bekannten Chlamydien-Spezies in einem einzigen Test möglich.

RALF EHRLICH* UND PETER SLICKERS*

Chlamydien-Infektionen können indirekt durch den Nachweis von Chlamydien-spezifischen Antikörpern und direkt durch den Nachweis von Chlamydien-DNA oder mittels Kultivierungstests detektiert werden. Da Chlamydien-spezifische Antikörper noch relativ lange nach einer Infektion vorhanden sind, stellt ein erhöhter Antikörpertiter für sich noch keine Indikation zur Behandlung dar. Um über eine Therapie zu entscheiden, sollten deshalb klinische Krankheitszeichen vorliegen und ein direkter Nachweis des Erregers über DNA-Test oder Kultivierung erfolgen.

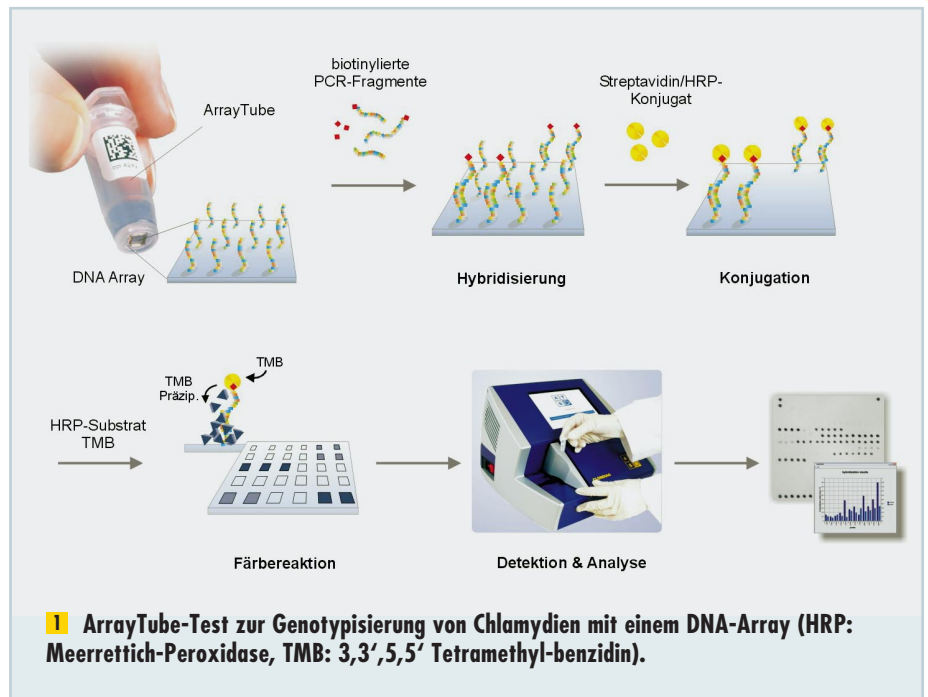
Die Plattform

Zur Genotypisierung von Vertretern der Chlamydiacea hat Clondiag chip technologies einen DNA-Array basierten Test auf Basis von 23S-rRNA Sequenzen entwickelt [1] mit dem sich alle neun Arten der Familie der Chlamydiacea sicher und schnell unterscheiden lassen (Tabelle 1).

Der Test basiert auf dem ArrayTube-System, das sich durch einfache Handhabbarkeit und niedrige Kosten pro Test auszeichnet. Zentrale Einheit ist ein Oligonukleotid-Sonden-Array, das auf einem 3 x 3 mm großen chemisch modifizierten Glasträger aufgebracht ist und 50 individuelle Hybridisierungssonden umfasst. Das Sonden-Array befindet sich als Boden integriert in einem Mikroreaktionsgefäß,

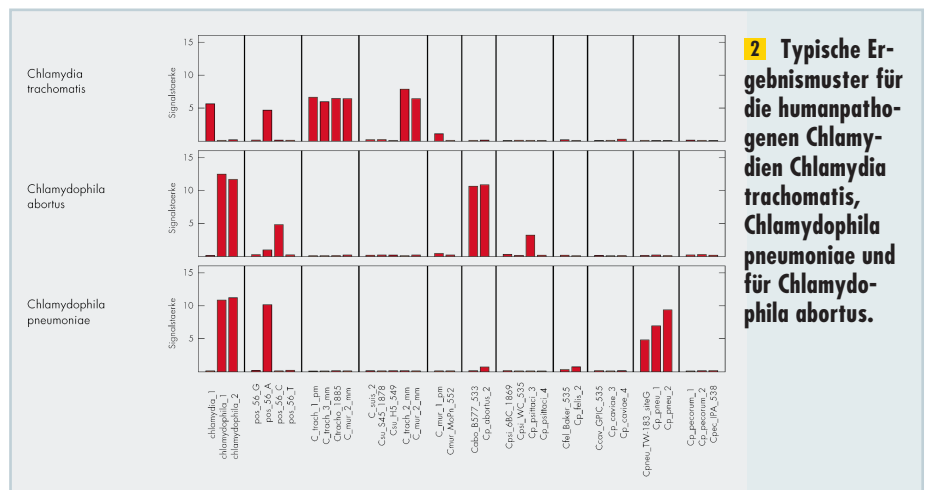
* R. Ehrlich, P. Slickers, Clondiag chip technologies GmbH, 07749 Jena

DNA-Array zur Genoty



das mit Standard-Laborgeräten einfach prozessiert werden kann (Abb. 1). Hybridisierung und Waschstschritte können in einem einfachen Inkubationsschüttler durchgeführt werden. Die Hybridisierungsmuster werden mit einer sensitiven kolorimetrischen Methode sichtbar gemacht. Zum Auslesen der Hybridisierungsmuster und für die Auswertung der Daten steht ein ArrayTube-Auslesegerät zur Verfügung. Die Auswahl und Optimierung der 50 Hybridisierungssonden erfolgte sowohl mittels bioinformatischer Sequenzdatenanalyse als auch experimentell mit Hilfe eines kombinatorischen DNA-

Arrays, auf dem eine große Anzahl möglicher Sequenzvarianten erzeugt und getestet wurden [1]. Alle so ausgewählten Sonden binden im Bereich der Domäne I der 23S-rRNA. Dieser Bereich enthält sowohl stark konservierte als auch sehr variable Sequenzabschnitte. Zwischen zwei bei allen Chlamydiacea konservierten Stellen wird mit Konsensus-Primern ein PCR-Produkt erzeugt. Dieses PCR-Produkt schließt einen sehr variablen Bereich ein, das sogenannte „most variable window“. Innerhalb dieses Bereichs gibt es für jede der neun Arten Sequenzvarianten, die sich eindeutig einer Spezies zuordnen lassen.



Identifizierung von Chlamydien


Tabelle 1: Die Familie der Chlamydiaceae umfasst insgesamt neun Arten, die entsprechend der Nomenklatur von Everett et al. [2] zwei Gattungen zugeordnet werden.

Spezies	Humanpathogen	Tierpathogen
<i>Chlamydia trachomatis</i>	++	
<i>Chlamydia suis</i>		Schwein
<i>Chlamydia muridarum</i>		Nager
<i>Chlamydomphila abortus</i>	+ [3]	Rind
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	+	Vögel
<i>Chlamydomphila felis</i>		Katze
<i>Chlamydomphila caviae</i>		Meerschwein
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	++	
<i>Chlamydomphila pecorum</i>		Rind

Abbildung 1 zeigt den typischen Arbeitsablauf für ein Hybridisierungsexperiment. Genomische DNA wird zunächst einer PCR unterworfen, um das chlamydien-spezifische Fragment der 23S-rRNA zu amplifizieren. Dabei wird biotinyliertes dUTP

zugegeben, um das PCR-Produkt zu markieren. Die biotinylierten PCR-Produkte werden anschließend gegen das DNA-Array hybridisiert. Das Hybridisierungsmuster wird mit Hilfe einer katalytisch induzierten Präzipitationsreaktion sichtbar gemacht und mit dem ArrayTube-Auslesegerät detektiert und analysiert.

Abbildung 2 zeigt exemplarisch die Ergebnisse von Hybridisierungsexperimenten mit *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydomphila pneumoniae* und *Chlamydomphila abortus*. Für jede Spezies ergibt sich ein charakteristisches Muster von Sondengruppen mit entsprechenden Signalen. Der gesamte Test einschließlich Probenentnahme und PCR lässt sich an einem Arbeitstag durch-

führen und ist damit optimal für die Routinediagnostik von Chlamydien geeignet. 

Literatur:

- [1] Sachse K, Hotzel H, Slickers P, Ellinger T, Ehrlich R; DNA Microarray-Based Detection and Identification of *Chlamydia* and *Chlamydomphila* spp.; Molecular and Cellular Probes, 2004 accepted (in press)
- [2] Everett KD, Bush RM, Andersen AA; Int J Syst Bacteriol. 1999. 2:415-440
- [3] Walder G, Meusburger H et al; Emerg Infect Dis. 2003. 12:1642-1644

Weitere Informationen:

www.laborpraxis.de



InfoClick

137235

- Der direkte Kontakt
- Nähere Beschreibung des ArrayTube-Systems
- Weitere Details über Chlamydiosen



Fax: +49 (0 36 41) 59 47 20