

SeroCP™ IgG (RT)

Test ELISA pour la détection des anticorps IgG anti-*Chlamydia pneumoniae* dans le sérum humain

Notice Technique

Coffret de 96 tests
(Référence : 1191-01)

Pour usage diagnostique *in vitro*.
Pour usage professionnel uniquement
A conserver à +2°C - +8°C. **Ne Pas Congeler.**



Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003
ISRAEL
Tel. +972.8.8562920
Fax: +972.8.8523176
E-mail: support@savyondiagnosics.com

Utilisation

Le coffret SeroCP™ IgG (RT) est utilisé pour détecter les anticorps IgG spécifiques de *Chlamydia pneumoniae* dans le sérum humain.

Le coffret Savyon® SeroCP™ IgG (RT) est un test immuno-enzymatique utilisant un antigène absorbé (ELISA). La trousse Savyon SeroCP™ RT est utilisée comme aide dans le diagnostic d'une infection à *C. Pneumoniae*.

Savyon® SeroCP™ IgG (RT) est une nouvelle version du test ELISA qui comporte les améliorations suivantes : incubations à température ambiante, durée de test réduite et utilisation d'un conjugué prêt à l'emploi.

Pour usage diagnostique *in vitro*.

Introduction

Chlamydia pneumoniae (TWAR 183) est l'un des agents infectieux associé à de nombreuses pathologies, incluant des infections du système respiratoire des voix basses et hautes (1).

Bien que *C. pneumoniae* puisse provoquer de graves infections, telles que des pharyngites, des sinusites, des bronchites aiguës et des pneumonies communautaires, la majorité des infections sont bénignes, asymptomatiques et donc d'un diagnostic difficile.

Ces infections, si elles ne sont pas décelées ni traitées, peuvent conduire à des affections prolongées et persistantes. Des études récentes montrent une association possible entre *C.pneumoniae* et des infections chroniques (2).

La prévalence des anticorps sériques de *C. pneumoniae* chez les enfants d'âge préscolaire est faible et augmente jusqu'à 50% chez les adultes.

Cependant, la difficulté d'effectuer des prélèvements au niveau des sites infectés, affecte les performances du dépistage direct de *C.pneumoniae*.

Aussi, la méthode utilisée en routine pour le diagnostic de *C. pneumoniae* est la sérologie.

La sérologie est un outil non invasif pour le dépistage des infections chroniques à *C.pneumoniae* (3), pour lesquelles les méthodes de dépistage direct sont peu efficaces (4).

Lors d'une primo-infection, il se produit une réponse rapide des anticorps IgM souvent en une ou deux semaines. L'apparition des isotypes IgG et IgA peut ne survenir que 6 à 8 semaines après. Les anticorps IgM diminuent entre le 2ème et le 6ème mois après une infection aiguë (5). Le taux des anticorps IgG augmente puis diminue lentement, les anticorps IgA ont tendance à disparaître rapidement (6).

En cas de réactivation, les anticorps IgM peuvent ne pas apparaître ou n'apparaître qu'à un titre faible, aussi l'absence des anticorps IgM n'exclue pas une infection en cours. (7)

Dans le cas d'une réinfection, le niveau des anticorps IgA et IgG augmente rapidement, le plus souvent dès la première ou la deuxième semaine (8).

Le taux des anticorps IgG et IgA augmente rapidement entre la première et la deuxième semaine qui suit une réactivation (3). La persistance de taux élevé en IgA peut être le signe d'une infection chronique à *C.pneumoniae* (6).

Les anticorps IgG persistent longtemps et diminuent très lentement. Leur présence indique un contact à un moment indéterminé avec le *C.pneumoniae*. Cependant des taux élevés peuvent indiquer une infection en cours ou chronique.

Le test SeroCP™ RT mis au point par Savyon Diagnostics Ltd. est un test ELISA utilisant des corps élémentaires d'antigènes de *C. pneumoniae* (TW™ - 183), ce qui permet un diagnostic plus précis des anticorps spécifiques de *C. pneumoniae*.

Pour le diagnostic complet d'une infection présente, chronique ou passée, il est recommandé de déterminer les anticorps IgG, IgM et IgA spécifique de *C. pneumoniae*.

Principe du Test

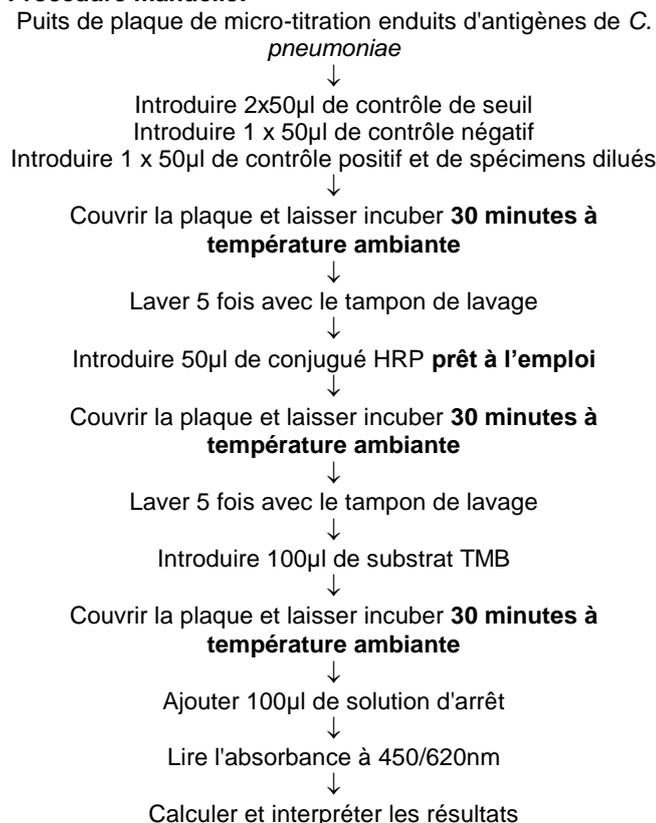
- Des plaques de micro-titration SeroCP™ RT sont enduites d'antigènes purifiés de *C. pneumoniae* (TW™ - 183).
- Le sérum à tester est dilué puis mis à incuber **30 minutes à température ambiante** dans les puits de la microplaque du test SeroCP™ RT. Lors de cette étape, les anticorps anti-spécifiques de *C. pneumoniae* présents dans l'échantillon vont se fixer aux antigènes *C. Pneumoniae* immobilisés.
- Les anticorps non spécifiques sont éliminés par lavage.
- On introduit un conjugué anti-IgG humaine couplée à la peroxydase de Raifort (HRP). Durant cette étape, le conjugué HRP se fixe au complexe antigène-anticorps fixé auparavant.
- Le conjugué non lié est éliminé par lavage.
- Dès l'introduction du substrat TMB provoque l'hydrolyse de la peroxydase, donnant une solution bleue de substrat réduit.
- La solution d'arrêt est ensuite ajoutée. La couleur bleue vire au jaune et la densité optique est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (longueur d'onde : **450/620nm**).

- L'absorbance est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques fixés aux antigènes *C. Pneumoniae*.

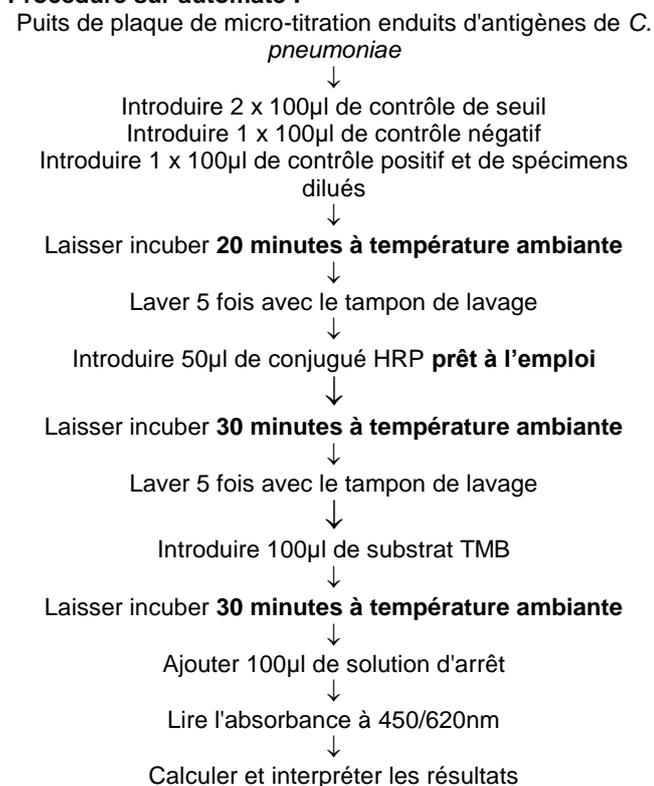
Composition du coffret : pour une utilisation manuelle / pour une utilisation sur automate

Résumé des étapes : Manuelle/ Automate*

Procédure manuelle:



Procédure sur automate :



Coffret de 96 tests

Référence : A1191-01M / A1191-01D

1. Plaque de micro-titration enduite d'antigènes de *C. pneumoniae*: 96 puits sécables, enduits d'antigènes de *C. pneumoniae*, placés dans un sachet d'aluminium contenant une carte de desséchant.
1 plaque/ 1 plaque
2. Tampon de lavage concentré (20 x): tampon A PBS – Tween
1 flacon de 100 ml/1 flacon de 100 ml
3. Diluant de sérum-RT (bleu): solution tampon prête à l'emploi. Contient moins de 0,05% de proclin comme conservateur.
1 flacon de 30 ml/2 flacons de 60 ml
4. Conjugué HRP (vert) prêt à l'emploi IgG antihumaine (spécifique de la chaîne gamma) conjuguée à de la peroxydase de raifort (HRP). Contient moins de 0.05% de proclin comme conservateur.
1 flacon, 10 ml
5. Contrôle de seuil : Sérum contenant des IgG spécifiques de *C. Pneumoniae* prêt à l'emploi visant à déterminer des valeurs seuil. Contient moins de 0,1% d'azide de sodium comme conservateur.
1 flacon de 2,5 ml/1 flacon de 2,5 ml
6. Contrôle négatif: sérum humain négatif en IgG spécifiques de *C. pneumoniae*, prêt à l'emploi. Contient moins de 0.05% de proclin et moins de 0,1% d'azide de sodium comme conservateur.
1 flacon de 2 ml/1 flacon de 2 ml
7. Contrôle positif: sérum humain positif en IgG spécifiques de *C. pneumoniae*, prêt à l'emploi. Contient moins de 0.05% de proclin et moins de 0,1% d'azide de sodium comme conservateur.
1 flacon de 2 ml /1 flacon de 2 ml
8. Substrat TMB: solution prête à l'emploi. Contient de la 3, 3', 5, 5' tétraméthylbenzidine comme chromogène et du peroxyde comme substrat.
1 flacon de 14 ml/1 flacon de 16 ml
9. Solution d'arrêt: solution prête à l'emploi. Contient de l'acide sulfurique dilué (1M).
1 flacon de 15 ml/1 flacon de 16 ml
10. Couvercle de plaque: **1 unité / aucun**
11. Manuel d'instructions: **1/1**

Matériel nécessaire non fourni

1. Tubes à hémolyse et portoirs pour préparer les dilutions des sérums de patients.
2. Micropipettes ou pipettes multi-canaux (5-50, 50-200 et 200-1000µl) avec embouts jetables.
3. Éprouvette volumétrique de 1 litre.
4. Une fiole jaugée de 50ml.
5. Bouteille pour la solution de lavage.
6. Papier absorbant.
7. Agitateur vortex.
8. Lecteur ELISA équipé d'un filtre à 450nm ou 620 nm.
9. Eau distillée ou désionisée.

Précautions d'emploi

POUR USAGE IN VITRO

1. Ce kit contient des sérums humains qui ont été testés par des techniques approuvées par la FDA ou marquées CE – Ils ont été trouvés négatifs vis-à-vis des antigènes HBs, des anticorps VIH 1 et 2 et anti VHC. Comme aucune technique ne peut garantir l'innocuité absolue des produits testés, ceux-ci doivent donc être manipulés comme potentiellement infectieux - selon les recommandations publiées dans le manuel "Sécurité biologique dans les laboratoires de microbiologie et de biologie médicale, 1988" du CDC/NIH (National Institute of Health - Institut National Américain de la Santé).
2. La solution de substrat TMB est une substance irritante pour la peau et les muqueuses. Éviter tout contact direct.
3. L'acide sulfurique dilué (1M H₂SO₄) est un agent irritant pour les yeux et la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
4. Tous les composants de la trousse ont été testés par lot. Ne pas mélanger les composants de différents lots et ne pas utiliser des réactifs provenant d'autres fournisseurs.

Conservation et Stabilité des Réactifs

1. Tous les composants de la trousse doivent être conservés entre +2°C - +8°C. Dans ces conditions, les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. L'exposition des composants de la trousse pendant plusieurs heures à température ambiante n'altère pas les réactifs s'ils sont munis de leur bouchon d'origine ou restés scellés.
NE PAS CONGELER!
2. Une fois le coffret ouvert, les réactifs se conservent pendant 90 jours.
3. Le sachet d'aluminium contenant les barrettes de puits doit être soigneusement refermé avec le sachet déshydratant.
4. Il est possible que des cristaux se forment durant la conservation de la solution de lavage concentrée (20x). Redissoudre les cristaux en plaçant le tampon à +37°C avant dilution. Une fois diluée, la solution reconstituée est stable pendant 21 jours si elle est conservée entre +2°C et +8°C.

Prélèvement des échantillons

Recueillir les échantillons de sérum en respectant les conditions d'asepsie. Ne pas utiliser de sérums inactivés par la chaleur.

Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums lipémiques ou troubles. Les particules et les précipités contenus dans le sérum peuvent fausser les résultats. Ces échantillons doivent être clarifiés par centrifugation ou filtration avant analyse.

Conservation

Les échantillons à tester peuvent être conservés 7 jours entre +2°C et +8°C (il est recommandé de rajouter de l'azide de sodium à 0,1%). Si le test est prévu dans un délai plus long, conserver et aliquoter les prélèvements à -20°C. Il est recommandé de ne pas effectuer des décongelations successives.

Réalisation manuelle du test

La procédure ci-dessous correspond à une utilisation manuelle, veuillez consulter la section suivante pour une utilisation automatisée.

A. Préparation des Réactifs

1. Amener tous les réactifs et les échantillons cliniques à analyser à température ambiante. Bien mélanger le contrôle de seuil, le contrôle positif, le contrôle négatif et les échantillons avant usage.
2. Déterminer le nombre total d'échantillons à analyser. Outre les échantillons, inclure les réactifs suivants dans chaque analyse: **deux puits pour le contrôle de seuil et un puits pour le contrôle négatif et le contrôle positif.**
3. Retirer la plaque de micro-titration de son sachet d'aluminium en coupant l'extrémité du sachet près de la partie scellée. Laisser le nombre de barrettes voulues dans le portoir de 96 puits.
Conservation: les barrettes non utilisées doivent être replacées dans le sachet d'aluminium avec le desséchant, puis sceller le sachet en roulant l'extrémité ouverte et en collant un ruban adhésif sur toute la longueur de l'ouverture.

Note: la durée de conservation des plaques une fois replacées dans un sachet scellé est de 90 jours à dater du jour de première ouverture.

4. Diluer le tampon de lavage concentré à 1/20 avec de l'eau distillée. Par exemple, pour préparer un litre de tampon de lavage, ajouter 50 ml de tampon de lavage concentré à 950ml d'eau distillée.
Conservation: une fois diluée, la solution peut être conservée à une température comprise entre +2 et +8°C durant 21 jours maximum.

Note: lors d'une conservation au froid, des cristaux peuvent se former dans le tampon de lavage concentré 20x. Il s'agit d'un phénomène parfaitement normal. Faire dissoudre ces cristaux en ramenant le tampon à + 37°C avant de le diluer.

B. Incubation des échantillons de sérums et des contrôles

5. Diluer chaque sérum à analyser à **1/110** avec le diluant de sérum-RT fourni comme suit:
Exemple: Introduire 1090µl de diluant de sérum-RT dans chaque tube. Ajouter 10µl de sérum à analyser dans chaque tube.
6. Déposer 50µl de contrôle de seuil (en double), prêt à l'emploi, 50µl de contrôle positif, prêt à l'emploi ; 50µl de contrôle négatif, prêt à l'emploi et 50µl de sérum dilué au 1:110 dans des puits séparés.
7. Couvrir les plaques avec un couvercle pour plaque et mettre à incuber durant **30 minutes à température ambiante (+22°C à +28°C)**.
8. Jeter le liquide contenu dans les puits. Tenir compte du décalage lié au temps de dépôt.
9. **Étape de lavage :** remplir entièrement chaque puits avec le tampon de lavage (300-350µl) puis éliminer ce liquide. Répéter encore 4 fois, pour un total de 5 étapes de lavage.
10. Procéder à deux phases d'aspiration en appliquant un mouvement circulaire.

C. Incubation avec le conjugué

11. Déposer 50µl de conjugué prêt à l'emploi dans chaque puits.
12. Couvrir les plaques avec un couvercle pour plaques et mettre à incuber durant **30 minutes à température ambiante (+22°C à +28°C)**.
13. Jeter le liquide contenu dans les puits et laver comme décrit aux étapes 9-10.

D. Incubation avec du substrat TMB

Note: le substrat TMB est prêt à l'emploi.

14. Déposer 100µl de substrat TMB dans chaque puits. Couvrir les plaques avec un couvercle pour plaques et mettre à incuber durant **30 minutes**.
15. Arrêter la réaction en introduisant 100µl de solution d'arrêt (H₂SO₄ 1M) dans chaque puits.

E. Détermination des résultats

16. Essuyer soigneusement le dessous de la plaque, vérifier l'absence de bulles d'air dans les puits et lire à **450/620 nm** dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

Note : Éliminer les éventuelles bulles d'air présentes dans les puits et essuyer soigneusement le dessous de la microplaque avant la lecture au spectrophotomètre.

Procédure de test conseillée dans le cas d'une utilisation sur automate

Les flacons et le volume des réactifs ont été adaptés pour une utilisation sur automate.

A. Préparation des Réactifs

1. Amener tous les réactifs et les échantillons cliniques à analyser à température ambiante. Bien mélanger le contrôle de seuil, le contrôle positif, le contrôle négatif et les échantillons avant usage.
2. Déterminer le nombre total d'échantillons à analyser. Outre les échantillons, inclure les réactifs suivants dans chaque analyse: **deux puits pour le contrôle de seuil et un puit pour le contrôle négatif et le contrôle positif**.
3. Retirer la plaque de micro-titration de son sachet d'aluminium en coupant l'extrémité du sachet près de la partie scellée. Laisser le nombre de barrettes voulues dans le portoir de 96 puits.

Conservation: les barrettes non utilisées doivent être replacées dans le sachet d'aluminium avec le desséchant, puis sceller le sachet en roulant l'extrémité ouverte et en collant un ruban adhésif sur toute la longueur de l'ouverture.

Note: la durée de conservation des plaques une fois replacées dans un sachet scellé est de 90 jours à dater du jour de première ouverture.

4. Diluer le tampon de lavage concentré à 1/20 avec de l'eau distillée. Par exemple, pour préparer un litre de tampon de lavage, ajouter 50 ml de tampon de lavage concentré à 950ml d'eau distillée.

Conservation: une fois diluée, la solution peut être conservée à une température comprise entre 2 et 8°C durant 21 jours maximum.

Note: lors d'une conservation au froid, des cristaux peuvent se former dans le tampon de lavage concentré 20x. Il s'agit d'un phénomène parfaitement normal.

Faire dissoudre ces cristaux en ramenant le tampon à 37°C avant de le diluer.

B. Incubation des échantillons de sérums et des contrôles

5. Diluer chaque sérum à analyser à **1/110** avec le diluant de sérum-RT fourni comme suit:
Exemple : Introduire 1090µl de diluant de sérum-RT dans chaque tube. Ajouter 10µl de sérum à analyser dans chaque tube.
6. Déposer 100 µl de contrôle de seuil (en double) dans chaque puits. Déposer 100 µl de contrôle négatif, la même quantité de contrôle positif et le sérum dilué à 1/110 dans des puits distincts de la bande de test.
7. Mettre à incuber durant **20 minutes à température ambiante (+22°C à +28°C)**.
8. Jeter le liquide de test altéré par l'incubation. Tenir compte- du décalage lié au temps de dépôt.
9. Procéder au lavage 5 fois avec 500 µl de tampon de lavage
10. Procéder à deux phases d'aspiration circulaire.

C. Incubation avec le conjugué

11. Déposer 50µl de conjugué **prêt à l'emploi** dans chaque puits.
12. Mettre à incuber durant **30 minutes à température ambiante (+22°C à +28°C)**.
13. Jeter le liquide contenu dans les puits et laver comme décrit aux étapes 9-10.

D. Incubation avec du substrat TMB

Note: le substrat TMB est prêt à l'emploi.

14. Déposer 100µl de substrat TMB dans chaque puits. Mettre à incuber durant **30 minutes à l'abri de la lumière**.
15. Arrêter la réaction en introduisant 100µl de solution d'arrêt (1M H₂SO₄) dans chaque puits.

E. Détermination des résultats

16. Déterminer l'absorbance à **450/620 nm** dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction et enregistrer les résultats.

Attention : chaque automate a des commandes spécifiques. Programmez votre appareil selon la procédure Savyon par automatisation lorsque vous utilisez ce coffret.

Critères d'acceptabilité du test

Le test peut être validé si :

1. **D.O contrôle positif :** ≥ 0.8
2. **Ratio D.O. Contrôle positif / D.O. contrôle de seuil > 2**
3. **D.O. contrôle négatif :** $< 0,3$

Si ces conditions ne sont pas remplies, le test doit être refait.

Calcul des résultats

1. Calculer la valeur moyenne des deux puits d'étalon seuil.
2. Pour normaliser les résultats obtenus, calculer les résultats en index (COI) selon le ratio :

$$\text{COI} = \frac{\text{D.O de l'échantillon}}{\text{Moyenne D.O de l'étalon seuil}}$$

Interprétation des résultats

TABLEAU 1: INTERPRETATION DES RESULTATS

COI	Résultats	Interprétation des résultats
<1.0	Négatif Taux d'anticorps IgG non détectable	Pas d'indication en faveur d'une infection en cours à C.pneumoniae
1-1.1	Limite Faible taux en anticorps IgG	Indication d'une possible exposition à C.pneumoniae Un deuxième prélèvement doit être testé après 2 à 4 semaines ¹
>1.1	Positif Taux approprié en anticorps IgG	Indication en faveur d'une infection en cours ou passée à C.pneumoniae²

1. Le premier échantillon doit être à nouveau testé, en même temps que le deuxième échantillon.
2. Pour différencier une infection en cours ou passée, il est recommandé de prévoir un deuxième prélèvement après 2 à 4 semaines.

Afin d'avoir un profil plus complet, on peut aussi tester les IgM et les IgA

TABLEAU 2: INTERPRETATION DES RESULTATS EN FONCTION DE LA COMBINAISON DES ANTICORPS IgG, IgA ET IgM

Taux d'anticorps spécifiques aux chlamydiae			Interprétation des résultats
IgG	IgA	IgM	
Négatif	Négatif	Négatif	Pas d'infection à <i>C. pneumoniae</i>
Négatif ou positif	Négatif ou positif	Positif	Indication d'une infection en cours
Positif	Négatif	Négatif	Indication d'une infection en cours ou passée.
Positif ou négatif	Positif	Négatif	Indication d'une infection en cours, récente ou chronique

Caractéristiques et performance du test

Comparaison du SeroCP™ IgG (RT) avec le SeroCP™ Quant IgG

Les résultats du SeroCP™ IgG (RT) ont été comparés avec ceux du SeroCP Quant™ IgG (Savyon diagnostics, Catalog No. A292-01).

L'étude a été réalisée sur 48 échantillons de sérum provenant d'individus symptomatiques et 96 échantillons de sérum provenant d'individus ne présentant aucune affection.

La sensibilité et la spécificité ont été calculées:

Sensibilité : 40/44 = 91,0 %
Spécificité : 44/47 = 93,6 %

Précision

Tableau 4 : Précision intra-essai (dans la même série) du coffret SeroCP™ IgG (RT) :

Echantillon	Répétabilité	Valeur moyenne	CV (%)
Positif	12	1,143	3,74
Négatif	12	0,219	3,95

Tableau 5 : Précision inter-essai (entre différentes séries) du coffret SeroCP™ IgG (RT):

Echantillon	Répétabilité	Valeur moyenne	CV (%)
Positif	12	1,483	4,04
Négatif	12	0,260	8,39

Limites du Test

1. On ne peut établir un diagnostic définitif sur la base d'une seule analyse sérologique. Il convient de prendre en compte toutes les données cliniques et les résultats de laboratoire.
2. Les échantillons prélevés trop tôt lors d'une primo-infection peuvent ne pas contenir d'anticorps décelables. Si l'on soupçonne une infection à chlamydiae, effectuer un deuxième prélèvement 14 à 21 jours plus tard et procéder à une nouvelle analyse.
3. Substances interférentes: Il n'est pas conseillé d'utiliser du sérum lipémique, trouble ou contaminé. Du sérum contenant du précipité ou des particules en suspension peut conduire à des résultats erronés. Ces échantillons devraient être clarifiés par centrifugation ou par filtration avant le dosage.

Bibliographie

1. Myhra, W., Mordhors, C.H., Wang, S.P., Grayston, J.T., (1990). Clinical features of *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, infection in Denmark 1975-1987. In: Bowie WR, Caldwell HD, Jones RP, et al., eds. Chlamydial infections. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 422-425.
2. Saikku, P., Leinonen, M., Tenkanen, L., Linnanmaki, E., Ekman, M.R., Manninen, V., Manttari, M., Frick, M.H. and Huttunen, J.K. (1992). Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki heart study. Ann. Intern. Med. 116: 273-278.
3. Sarov, I., Kleinman, D., Cevenini, R., Hocberg, G., Potashnik, G., Sarov, B. and Insler, V. (1986). Specific

- IgG and IgA antibodies to *Chlamydia trachomatis* in infertile women. In. J. Fertil. 31 (3): 193-197.
4. Campbell, L.A. (1993). PCR detection of *Chlamydia pneumoniae* In Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications (Persing, D.H., Smith, T.F., Tenover, F.C. and White, T.J., Eds). ASM Press. pp. 247-252
 5. Henry-Suchet, J., Askienazy-Elbhar, M., Thibon, M., Revol, C. and Akue, B.A. (1994). Post-therapeutic evolution of serum *chlamydia* antibody titers in women with acute salpingitis and tubal infertility. Fertility and Sterility. 62: No. 3.
 6. Saikku, P., Matila, K., Nieminen, M.S., Huttunen, J.K., Leinon, M., Eckman, M.R., Makela, P.H. and Valtonen, V. (1988). Serological Evidence of an Association of a Novel *Chlamydia* TWAR with Chronic Coronary Heart Disease and Acute Myocardial Infarction. Lancet. 2: 983-986.
 7. Grayston, J.T., Cambell, L.A., Mordhorst, C.H., Saikku, P., Thom, D. and Wang, S.P. (1989). A New Respiratory Pathogen: *Chlamydia pneumoniae* Strain TWAR. J. Inf. Dis. 161: 618-625.
 8. Saikku, P., Leinonen, M., Tenkanen, L., Linnanmaki, E., Ekman, M.R., Mannin, V., Manttari, M., Frick, M.H. and Huttunen, J.K. (1992). Chronic *Chlamydia pneumoniae* Infections as a Risk Factor for Coronary Heart Disease in the Helsinki Heart Study. Ann. of Int. Med. 116: 273-278.

**RESUME DU MODE OPERATOIRE MANUEL
SeroCP IgG (RT) Chlamydia pneumoniae IgG**

1. Diluer le tampon de lavage au 1/20 (5 ml de tampon de lavage + 95 ml d'eau distillée pour 1 barrette).
2. Diluer les sérums des patients au 1/110. Introduire 1090µl de sérum diluant RT dans chaque tube. Ajouter 10µl de sérum à analyser dans chaque tube.
3. Déposer dans les puits 50 µl de : contrôle de seuil (en double), contrôle positif, contrôle négatif et les sérums des patients dilués à 1/110.
4. Recouvrir les barrettes avec le couvercle de plaque et incuber 30 minutes à température ambiante (+22°C à +28°C).
5. Procéder au lavage des barrettes (5x).
6. Déposer 50 µl de conjugué prêt à l'emploi dans chacun des puits.
7. Recouvrir les barrettes avec le couvercle de plaque et incuber 30 minutes à température ambiante (+22°C à +28°C).
9. Procéder au lavage des barrettes (5x).
10. Déposer 100 µl de substrat prêt à l'emploi dans chacun des puits.
12. Recouvrir les barrettes avec le couvercle de plaque et incuber 30 minutes à température ambiante.
13. Ajouter 100 µl de solution STOP dans chacun des puits.
14. Lecture des D.O. à 450/620 nm



Theradiag
14 Rue Ambroise Croizat
77183 Croissy Beaubourg
Tel : +33 1 64 62 10 12
Fax : +33 1 64 62 09 66
info@theradiag.com



Savyon® Diagnostics Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 7761003
ISRAEL
Tel. +972.8.8562920
Fax: +972.8.8523176
E-mail: support@savyondiagnosics.com



European Authorized Representative: Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Brussels
Tel: +32.2.732.59.54 Fax: +32.2.732.60.03
E-mail: mail@obelis.net Mobile: +32.475.45.46.60