



## SeroCT™ IgG

ELISA para detecção de anticorpos IgG contra *Chlamydia trachomatis* em soro humano

### Manual de Instruções

Kit de teste para 96 determinações  
**Catálogo N.º A181-01**

Kit de teste para 192 determinações  
**Catálogo N.º B181-01**

Para Diagnóstico *In Vitro*  
Apenas para uso profissional  
Armazenar a 2-8º C. **Não Congelar**

Savyon®Diagnostics Ltd  
3 Habosem St. Ashdod 77610  
ISRAEL  
Tel: +972.8.8562920  
Fax: +972.8.8523176  
E-mail: [support@savyondiagnostic.com](mailto:support@savyondiagnostic.com)

### Interesse Clínico

O kit SeroCT™ – IgG foi designado para a detecção de anticorpos IgG específicos contra *Chlamydia trachomatis* em soro humano.

O kit Savyon® SeroCT™ – IgG pertence a uma nova geração de testes ELISA qualitativos com base em peptídeos sintéticos específicos de *Chlamydia trachomatis*. O SeroCT™ é utilizado como auxiliar de diagnóstico de infecção específica por *Chlamydia trachomatis*.

SeroCT™ – IgG deve ser realizado e interpretado em conjunto com o kit Savyon® SeroCT™ – IgA.

Para diagnóstico *In Vitro*. Apenas para uso profissional.

### Introdução

*Chlamydia* é uma bactéria gram-negativa intracelular obrigatória que provoca doenças agudas e crônicas quer em espécies mamíferas como de aves. O género *Chlamydia* compreende quatro espécies: *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci* e *C. pecorum* (1-4).

*C. trachomatis* está dividida em 15 serovares (5-8). Os serovares A, B, Ba e C são agentes de tracoma (9), a principal causa de cegueira evitável, endêmica nos países do terceiro mundo. Os serovares L<sub>1</sub>-L<sub>3</sub> são agentes de linfogranuloma venéreo. Os serovares D-K são a causa mundial mais comum de infecções genitais sexualmente transmissíveis: cervicite, endometrite/salpingite (10) nas mulheres e uretrite (11) tanto nos homens como nas mulheres. A endometrite/salpingite poderá conduzir à oclusão tubular, aumentando o risco de gravidez extra-

uterina e de infertilidade. A infecção genital poderá causar uma infecção aguda e persistente, ocasionalmente sem quaisquer sintomas clínicos. Geralmente, estas infecções são tratáveis aquando do seu diagnóstico. No entanto, sem qualquer tratamento, a infecção poderá progredir para uma inflamação crónica severa, conduzindo a infertilidade, gravidez ectópica, indução de aborto e parto prematuro. Além do mais, crianças de mulheres infectadas podem ser infectadas aquando do nascimento, podendo provocar conjuntivites ou pneumonia (12-14).

*C. pneumoniae* é um patógeno respiratório importante nos humanos e provoca até 10% dos casos de pneumonia adquirida em comunidade. Foi associada a doenças respiratórias agudas, pneumonia, asma, bronquite, faringite, síndrome pulmonar agudo da drepanocitose, doença coronária e síndrome Guillain-Barré (15-17)

*C. psittaci* infecta uma gama de espécies hospedeiras diversa, desde moluscos até aves e mamíferos e também provoca pneumonia severa. Nos animais, *C. psittaci* e *C. pecorum* conseguem induzir diversas síndromes como pneumonia, enterite, poliserosite, encefalite e conjuntivite.

Os testes serológicos, actualmente estabelecidos em muitos países, têm-se mostrado como uma boa resposta à detecção de infecções por *Chlamydia trachomatis*. Em infecções profundamente localizadas, a amostra de soro reduz a necessidade de procedimentos invasivos requeridos para a detecção directa de antígenos. No caso de infecções da parte inferior do trato urogenital, as limitações da colheita nomeadamente a eficácia do procedimento de amostragem por raspagem, as dificuldades na manipulação e transporte da amostra devem ser ponderadas. Acima de tudo, existe o problema de que a maioria das infecções por *Chlamydia* são assintomáticas. Assim, uma infecção pode persistir ao longo do tempo, ascender ao trato genital superior causando uma infecção profunda e crónica, aumentando a probabilidade de resultados falsos negativos aquando da detecção directa de antígenos.

O teste serológico para *C. trachomatis*, pela detecção de vários anticorpos específicos, é, hoje em dia, uma opção metodológica eficaz e muito aceitável (10, 11, 18, 19). Novas tecnológicas mais precisas aplicam os marcadores imunológicos IgM, IgA e IgG para caracterizar a presença e o estágio da infecção.

A presença de IgM específicos indica uma infecção aguda por *Chlamydia*. No entanto, a sua ausência não exclui a presença de uma infecção, especialmente nos casos recorrentes e crónicos. A utilização de IgA específicas como marcadores de infecção activa por *Chlamydia* desempenha um papel importante devido à sua vida média mais curta, enquanto persistir a estimulação antigénica. As IgA, no entanto, são mais adequadas à monitorização pós-tratamento. A IgG é marcador de resposta imune positiva para *Chlamydia* quer em infecções correntes, crónicas ou passadas.

As reacções serológicas cruzadas ocorrem entre três espécies diferentes de *Chlamydia*. A maioria dos testes serológicos de diagnóstico para *Chlamydia* utilizam como antígenos, quer corpos elementares purificados, testes de microimunofluorescência (MIF) e ELISA, quer lipopolissacarídeos (LPS) ou proteínas maiores da membrana externa purificadas (MOMP). Em todos aqueles

antígenos estão presentes géneros específicos de epítomos e, logo, observa-se uma baixa especificidade de espécie. Além do mais, uma grande proporção da população esteve exposta a *C. pneumoniae* (sem quaisquer sinais clínicos) resultando numa elevada prevalência de anticorpos anti-*Chlamydia*. Assim, a utilização dos testes serológicos convencionais de monitorização (MIF, EISA, EIA, etc.) para a diferenciação entre anticorpos específicos para *C. pneumoniae* e *C. trachomatis* não é suficiente.

A Savyon® Diagnostic desenvolveu um ensaio onde os epítomos específicos da espécie *C. trachomatis*, derivados de diferentes serotipos, são usados num teste ELISA. Este teste exclui os epítomos que possam ter reacções cruzadas entre espécies e permite uma determinação mais precisa e específica de anticorpos IgG e IgA contra *C. trachomatis*.

### Fundamento do Teste

- As placas SeroCT™ estão revestidas com peptídeos específicos de *C. trachomatis*.
- O soro a testar é diluído e incubado na placa SeroCT™ pré-revestida a 37° C durante 1 h. Neste passo, os anticorpos específicos contra *C. trachomatis* ligam-se aos peptídeos específicos de *C. trachomatis* imobilizados.
- Os anticorpos não específicos são removidos aquando da lavagem.
- É adicionado o conjugado peroxidase de rábano (HRP)/anti-IgG humana e incubada 1 h a 37° C. Neste passo, o conjugado-HRP liga-se com complexo antígeno-anticorpo já ligado à placa.
- O conjugado que não se liga é removido aquando da lavagem.
- Aquando da adição do substrato-TMB, o substrato é hidrolisado pela peroxidase, produzindo uma coloração azul do substrato reduzido.
- Aquando da adição da solução stop, a coloração azul passa a amarela e deve-se proceder à leitura usando um leitor de ELISA com um comprimento de onda a 450 nm.
- A absorvância é proporcional à quantidade de anticorpos específicos que se ligaram aos peptídeos imobilizados.

### Resumo do Procedimento

Poços da microplaca de titulação revestidos com antígenos específicos de *C. trachomatis*

↓

Adicionar 2 x 50 µl de Controlo Negativo  
Adicionar 1 x 50 µl de Controlo Positivo e amostras diluídas

↓

Cobrir a placa e incubar 1 h a 37° C e 100% de humidade

↓

Lavar 3 vezes com Tampão de Lavagem

↓

Adicionar 50 µl de Conjugado-HRP diluído 1/300

↓

Cobrir a placa e incubar 1 h a 37° C e 100% de humidade

↓

Lavar 3 vezes com Tampão de Lavagem

↓

Adicionar 100 µl de Substrato-TMB

↓

Cobrir a placa e incubar 15 min à temperatura ambiente

↓

Adicionar 100 µl de Solução Stop

↓

Ler absorvância a 450 nm

↓

Calcular e interpretar resultados

### Composição do Kit:

**Kit de teste para 96 determinações**  
**Catálogo N.º A181-01M**

1. **Placa de microtitulação revestida com antígenos de *C. trachomatis*** 96 poços separáveis (8 x 12) revestida com peptídeos específicos de *C. trachomatis*, embaladas numa bolsa de alumínio que contém uma saqueta dessecante. **1 placa**
2. **Tampão de Lavagem concentrado (20x):** um tampão PBS-Tween. **1 frasco, 100 ml**
3. **Diluyente do Soro (Azul):** Solução tampão pronta a usar. Contém menos de 0.05% de conservante proclin. **1 frasco, 30 ml**
4. **Diluyente do Conjugado (Verde):** Solução tampão pronta a usar. Contém menos de 0.05% de conservante proclin. **1 frasco, 40 ml**
5. **Controlo Negativo:** Soro humano negativo para IgG anti-*C. trachomatis* pronto a usar. Contém menos de 0.05% de conservante proclin e menos de 0.1% de azida sódica. **1 frasco, 2.5 ml**
6. **Controlo Positivo:** Soro humano positivo para IgG anti-*C. trachomatis* pronto a usar. Contém menos de 0.05% de conservante proclin e menos de 0.1% de azida sódica. **1 frasco, 2 ml**
7. **Conjugado-HRP concentrado (300x):** Peroxidase de rábano (HRP) conjugada a anti-IgG humana (específico para a cadeia gama). Contém menos de 0.05% de conservante proclin. **1 frasco, 0.2 ml**
8. **Substrato-TMB:** Solução pronta a usar que contém o cromagéneo 3,3',5,5' tetrametilbenzidina e a peroxidase como substrato. **1 frasco, 14 ml**
9. **Solução Stop:** Solução pronta a usar. Contém H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1M. **1 frasco, 15 ml**
10. **Tampa da placa:** **1 unidade**
11. **Manual de Instruções:** **1**

**Kit de teste para 192 determinações**  
**Catálogo N.º B181-01M**

1. **Placa de microtitulação revestida com antígenos de *C. trachomatis*** 96 poços separáveis (8 x 12) revestida com peptídeos específicos de *C. trachomatis*, embaladas numa bolsa de alumínio que contém uma saqueta dessecante. **2 placas**

2. **Tampão de Lavagem concentrado (20x):** Tampão PBS-Tween.  
**2 frascos, 100 ml cada**
3. **Diluyente do Soro (Azul):** Solução tampão pronta a usar. Contém menos de 0.05% de conservante proclín.  
**1 frasco, 60 ml**
4. **Diluyente do Conjugado (Verde):** Solução tampão pronta a usar. Contém menos de 0.05% de conservante proclín.  
**1 frasco, 80 ml**
5. **Controlo Negativo:** Soro humano negativo para IgG anti-C. trachomatis pronto a usar. Contém menos de 0.05% de conservante proclín e menos de 0.1% de azida sódica.  
**1 frasco, 2.4 ml**
6. **Controlo Positivo:** Soro humano positivo para IgG anti-C. trachomatis pronto a usar. Contém menos de 0.05% de conservante proclín e menos de 0.1% de azida sódica.  
**1 frasco, 1.25 ml**
7. **Conjugado-HRP concentrado (300x):** Peroxidase de rábano (HRP) conjugada a anti-IgG humana (específico para a cadeia gama). Contém menos de 0.05% de conservante proclín.  
**1 frasco, 0.2 ml**
8. **Substrato-TMB:** Solução pronta a usar que contém o cromagéneo 3,3',5,5' tetrametilbenzidina e a peroxidase como substrato.  
**1 frasco, 24 ml**
9. **Solução Stop:** Solução pronta a usar. Contém H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1M.  
**1 frasco, 30 ml**
11. **Tampa da placa:**  
**2 unidades**
12. **Manual de Instruções:** **1**

#### Material necessário mas não fornecido

1. Tubos de ensaio limpos para diluição dos soros dos pacientes.
2. Frasco de plástico descartável para diluição do conjugado HRP/anti-IgG humana.
3. Micropipetas ajustáveis, ou pipetas multicanal (5-50, 50-200 e 200-1000 µl) e pontas descartáveis.
4. Balão volumétrico de um litro
5. Uma proveta volumétrica de 50 ml.
6. Frasco de lavagem.
7. Papel absorvente.
8. Agitador automático.
9. Banho a 37° C com cobertura, ou câmara húmida colocada numa incubadora a 37° C.
10. Leitor de ELISA com filtro de 450 nm.
11. Água destilada ou desionizada.

#### Avisos e Precauções

##### Para diagnóstico In Vitro

1. Este kit contém soros humanos que foram testados por técnicas aprovadas pela FDA e deram resultados negativos para antigénios de HBV e HCV e para anticorpos de HIV 1 & 2. Uma vez que nenhum método oferece segurança total quando à não transmissibilidade de infecções a partir de sangue

humano, todos os componentes sanguíneos, fornecidos neste kit, devem ser manipulados como soros ou sangue potencialmente infecciosos, de acordo com as recomendações publicadas no manual da CDC/NIH "Bio segurança em Laboratórios Microbiológicos e Bio médicos, 1988".

2. A solução Substrato-TMB é um produto que provoca irritação na pele e membranas mucosas. Evitar o contacto directo.
3. O ácido sulfúrico diluído (1 M) é um agente que provoca irritação nos olhos e pele. No caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente a área com água e consultar um clínico. Não derramar água neste produto. No caso de acidente ou desconforto, consultar um clínico (se possível apresentar o rótulo).
4. Todos os componentes deste kit foram calibrados e testados por lotes. Não se recomenda a mistura de componentes provenientes de lotes diferentes pois poderá afectar os resultados.

#### Conservação e Estabilidade dos Reagentes

1. Todos os reagentes fornecidos devem ser armazenados a 2-8° C. Os frascos não abertos de reagentes são estáveis até a expiração da data de validade na embalagem do kit. A exposição à temperatura ambiente dos componentes selados ou fechados no local de origem durante algumas horas não provocará danos nos reagentes. **NÃO CONGELAR!**
2. Uma vez aberto, os elementos deste kit conservam-se até 90 dias.
3. As tiras não usadas devem ser conservadas na bolsa de alumínio com a sua saqueta dessecante, enrolando a extremidade e selando com fita adesiva toda o comprimento da abertura.
4. Poder-se-ão formar cristais no Tampão de Lavagem concentrado 20x durante o armazenamento no frio, o que é perfeitamente normal. Dissolver os cristais aquecendo o tampão a 37° C antes da sua diluição. Uma vez diluído, a solução pode ser armazenada a 2-8° C até 21 dias.

#### Colheita das Amostras

Preparar os soros a partir de amostras colhidas assepticamente, usando as técnicas padronizadas. Não se devem usar soros inactivados por aquecimento. Não é recomendável a utilização de soros turvos, lipémicos. A presença de partículas de material e precipitados nos soros poderão conduzir a resultados erróneos. Tais amostras deverão ser clarificadas por centrifugação ou filtração prévia à sua utilização.

#### Conservação:

As amostras deverão ser armazenadas a 2-8° C e testadas até 7 dias (altamente recomendável a adição 0.1% se azida sódica). Se se prever um maior período de armazenamento, fazer alíquotas das amostras e conservar abaixo dos -20° C. Evitar descongelações sucessivas.

## Procedimento do Teste-Manual

Protocolo para automatização, disponível sob requisição

### A. Preparação de Reagentes

1. Colocar todos os componentes e amostras clínicas à temperatura ambiente. Agitar bem o Controlo Positivo, o Controlo Negativo e as amostras antes de usar.
2. Determinar o número total de amostras a testar. Para além das amostras, deve-se juntar os seguintes reagentes a cada teste: dois poços de Controlo Negativo e um poço de Controlo Positivo.
3. Retirar a placa de microtitulação da bolsa de alumínio cortando a extremidade mais próxima da porção selada. Deixar o número necessário de tiras (de acordo com o número de amostras a testar) do suporte de 96 poços.
4. Fazer uma diluição de 1/20 do Tampão de Lavagem concentrado com água desionizada ou destilada. Por exemplo, para preparar um litro de Tampão de Lavagem, adicionar 50 ml de Tampão de Lavagem concentrado a 950 ml de água desionizada ou destilada.

### B. Incubação das amostras de soros e controlos

5. Diluir cada soro 1/21 com o Diluente de Soro fornecido, da seguinte forma: adicionar 10 µl de soro a 200 µl de Diluente do Soro.
6. Depositar 50 µl de Controlo Positivo, Controlo Negativo e soros diluídos 1/21 em poços separados da tira de teste.

**O Controlo Negativo deverá ser depositado em dois poços separados.**

7. Cobrir as tiras com a tampa da placa e incubar durante 1 h a 37° C numa câmara húmida.
8. Esvaziar o conteúdo líquido dos poços.
9. Lavagem: Encher totalmente cada poço com Tampão de Lavagem e, depois, esvaziar todo o conteúdo, repetir este passo duas vezes, para um total de três passos de lavagem.
10. Secar as tiras e suporte, batendo suavemente sobre papel absorvente limpo.

### C. Incubação com o Conjugado

11. O conjugado HRP/anti-IgG humana deve ser diluído imediatamente antes de usar. Fazer uma diluição 1/300 do conjugado-HRP com o Diluente do Conjugado. Por exemplo, para duas tiras preparar no mínimo de 3 ml de Conjugado-HRP diluído (10 µl de Conjugado-HRP concentrado em 3 ml de Diluente do Conjugado).
12. Depositar 50 µl de conjugado diluído em cada poço.
13. Cobrir as tiras com a tampa da placa e incubar durante 1 h a 37° C numa câmara húmida.
14. Esvaziar o conteúdo dos poços e lavar como descrito nos passos 9-10.

### D. Incubação com o Substrato-TMB

15. Depositar 100 µl de Substrato-TMB em cada poço, cobrir com a tampa da placa e incubar à temperatura ambiente durante **15 minutos**.
16. Parar a reacção adicionando 100 µl de Solução Stop (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1M) em cada poço.

### E. Determinação dos resultados

17. Determinar a absorvância a 450 nm e registar os resultados. A determinação não deverá ser realizada mais de 30 minutos após a paragem da reacção cromogénica.

**Nota:** Qualquer bolha de ar deverá ser removida antes da leitura.

O fundo da placa de ELISA deverá ser cuidadosamente limpo.

## Validação do Teste

Para que o teste seja válido devem cumprir-se os critérios seguintes. Se estes critérios não forem cumpridos, o teste deverá ser considerado inválido e deverá ser repetido.

1. **Controlo Positivo:** O valor da absorvância deverá ser  $\geq 0.8$  a 450 nm.
2. **Controlo Negativo:** O valor médio da absorvância do Controlo Negativo realizado em duplicado deverá ser  $0.1 < CN \leq 0.4$  a 450 nm.

### Cálculo do Valor de “Cut-off” (COV) e o Índice de “Cut-off” (COI)

O valor de cut-off é calculado de acordo com a seguinte fórmula: **COV = CN x 2**

**CN** = Valor médio da absorvância a 450 nm do Controlo Negativo realizado em duplicado.

Para normalizar os resultados obtidos em testes diferentes, dever-se-á calcular o índice de cut-off de acordo com a seguinte fórmula :

$$COI = \frac{\text{absorvância da amostra de soro a 450 nm}}{COV}$$

### Interpretação dos Resultados

**Tabela 1: Correlação entre a absorvância a 450 nm e a presença de anticorpos IgG anti-*C. trachomatis***

Absorvância a 450 nm O.D	COI	Resultado	Interpretação dos Resultados
$O.D < COV$	$< 1.0$	Negativo	Anticorpos IgG anti- <i>C. trachomatis</i> não detectáveis
$COV \leq O.D \leq COV \times 1.1$	1-1.1	Limite	Não se consegue determinar a presença ou ausência de níveis detectáveis (limite) de anticorpos IgG anti- <i>C. trachomatis</i> . Deverá obter-se uma segunda amostra de soro após 14-21 dias para repetir teste. (Quando a segunda amostra também se encontra na zona limite deverá considerar-se negativa)
$O.D > COV \times 1.1$	$> 1.1$	Positivo	Níveis detectáveis de anticorpos IgG anti- <i>C. trachomatis</i>

**Tabela 2: Interpretação dos resultados com base na determinação de anticorpos IgG e IgA**

Níveis de anticorpos específicos anti <i>C. trachomatis</i>		Interpretação dos Resultados
IgG	IgA	
<b>Negativo</b>	Negativo	Negativo (ou abaixo da sensibilidade deste teste)
<b>Positivo</b>	Negativo ou Limite	Poderá indicar infecção passada ou corrente
<b>Limite</b>	Limite	É necessário testar uma segunda amostra após 14-21 dias. Se se repetir o resultado limite deve-se-á considerar negativo
<b>Positivo</b>	Positivo	Poderá indicar infecção aguda ou crónica
<b>Negativo</b>	Positivo	Poderá indicar infecção aguda ou crónica

#### Limitações do Teste

1. Não se deverá utilizar apenas um teste serológico para o diagnóstico final. Todos os dados clínicos e laboratoriais deverão ser tomados em consideração.
2. As amostras obtidas demasiado cedo durante a infecção primária poderão não conter anticorpos detectáveis. Se se suspeitar de infecção por Chlamydia, deverá obter-se uma segunda amostra 14-21 dias depois e deverá ser testada em paralelo com a amostra inicial.

#### Características de Desempenho do SeroCT™ – IgG

**Tabela 3: Sensibilidade do SeroCT™ – IgG comparado com a cultura.**

O estudo foi realizado num laboratório de referência em pacientes com culturas positivas para *C. trachomatis*.

Cultura Positiva	SeroCT™ – IgG	
	Positivo	Negativo
45	35	10

**Sensibilidade:**  $35/45 \times 100 = 78\%$

**Tabela 4: Sensibilidade e Especificidade do SeroCT™ – IgG comparada com microimunofluorescência (MIF)**

MIF		SeroCT™ – IgG	
		Positivo	Negativo
Positivo	58	55	3
Negativo	50	5	45
Total	108	60	48

**Sensibilidade:**  $55/58 \times 100 = 95\%$

**Especificidade:**  $45/50 \times 100 = 90\%$

**Coerência geral:**  $100/108 = 93\%$

**Tabela 5: Especificidade do SeroCT™ – IgG em grupos controlo diferentes**

Grupo Testado	N.º de Soros	Negativos em SeroCT™ – IgG	Especificidade do SeroCT™ – IgG (%)
Dadores de sangue	250	230	92
Indivíduos negativos para <i>C. trachomatis</i> e positivos para <i>C. pneumoniae</i> (MIF)	35	33	94
Crianças saudáveis	30	29	97
Mulheres grávidas saudáveis	30	28	93

**Tabela 6: Especificidade do SeroCT™ – IgG comparado com dois testes MIF diferentes**

A especificidade do SeroCT™ – IgG foi determinada por comparação com dois estudos MIF independentes, cada um usando um teste MIF diferente. As amostras de soro usadas em cada estudo foram classificadas, por MIF, como negativas para anticorpos quer de *C. trachomatis* como *C. pneumoniae* (MIF Ct-/Cp-) ou como negativas para *C. trachomatis* e positivas para *C. pneumoniae* (MIF Ct-/Cp+)

	MIF Ct-/cp-	MIF Ct-/Cp+	SeroCT™ – IgG Negativo	SeroCT™ – IgG Positivo
Estudo #1 (MIF)	0	64	58	91
Estudo #2 (SeroFIA™ Savyon)	30	100	117	90

**Conclusão:** SeroCT™ – IgG demonstra uma especificidade superior a 90% para *C. trachomatis*.

#### Precisão

A precisão intra-ensaio (aquando do procedimento) do teste SeroCT™ – IgG é apresentada a seguir:

Amostra	N.º de réplicas	Valor médio	CV%
Positiva	10	0.835	2.5
Negativa	10	0.149	8.8

A precisão inter-ensaio (entre procedimentos) do teste SeroCT™ – IgG é apresentada a seguir:

Amostra	N.º de réplicas	Valor médio	CV%
Positiva	10	0.902	2.9
Negativa	10	0.167	5.5

## Bibliografia

1. **Sarov, I.B., Shemer, A.Y., Manor, E., Zvilich, M., Lunenfeld, E., Piura, B., Chaim, W and Hagay, Z.** (1989). Current topics in *Chlamydia trachomatis* Research. In: Serio, Ed). Perspectives in Andrology; Raven Press, New York, **53**: 355-366.
2. **Grayston, J.T., Kuo, C.C., Wang, S.P. and Altman J.** (1986). The new *Chlamydia psittaci* strain, TWAR, Isolated in acute respiratory tract infections. New Eng. J. Med. **315**: 161-168.
3. **Grayston, J. T., Kuo, C.C., Campbell, L.A. and Wang, S.P.** (1989). *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for Chlamydia sp. strain TWAR. Int. J. Syst. Bacteriol. **39**:88-90.
4. **Fukushi, H., and Hirai, K.** (1992). Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for Chlamydia strains derived from ruminants. Int. J. Syst. Bacteriol. **42**:306-308.
5. **Stephens, R. S., Tam, M. R., Kuo, C. C. and Nowinski, R.C.** (1982). Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis*: antibody specificities and antigen characterization. J. Immunol. **128**:1083-1089.
6. **Stephens, R. S., Sanchez-Pescador, R., Wagar, E. A., Inouye, C. and Urdea, M.S.** (1987). Diversity of *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein genes. J. Bacteriol. **169**:3879-3885.
7. **Yuan, Y., Zhang, Y. X., Watkins, N. G. and Caldwell, H.D.** (1989). Nucleotide and Deduced Amino Acid Sequences for the Four Variable Domains of the Major Outer Membrane Proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* Serovars. Infection and Immunity. **57**:1040-1049. Copyright 1989, American Society for Microbiology.
8. **Wang S.P., Kuo, C. C., Barnes, R.C., Stephens, R.S. and Grayston, J.T.** (1985). Immunotyping of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies. J. Infect Dis. **152**:791-800.
9. **Trehanne J. D.** (1985). The community epidemiology of trachoma. Rev Infect Dis. **7**:760-763.
10. **Piura, B., Sarov, I., Sarov, B., Kleinman, D., Chaim, W. and Insler, V.** (1985). Serum IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in salpingitis patients as determined by the immunoperoxidase assay. Eur. J. Epidemiol **1**: 110-116.
11. **Wang, S.P., Grayston, J.T., Kuo, C.C., Alexander, E.R., and Holmes, K.K.** (1977). SeroDiagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection with the microimmunofluorescence test. In: Nongonococcal urethritis and related infection, D. Hobson and K.K. Holmes (Eds), P. American Society for Microbiology, Washington DC. p. 237-248.
12. **Richard, L. S., Schachter, J. and Landers, D.V.** (1983). Chlamydial Infections in Obstetrics and Gynecology. Clinical Obstetrics and Gynecology **26**:143
13. **Thompson III S. E., and Dretler R. H.** (1982). Epidemiology and Treatment of Chlamydial Infections in Pregnant Women and Infants. Review of Infectious Diseases **4**:S747
14. **Mardh A., Ripa, T., Svensson, L. and Westrom, S.**(1977). *Chlamydia Trachomatis* Infection in Patients with Acute Salpingitis. *Chlamydia Trachomatis* and Acute Salpingitis. N. Engl. J. Med. No.24 **296**:1377-1379
15. **Grayston J. T., Campbell, L.A., Kuo, C.C., Mordhorst, C.H., Saikku, P., Thom, D.H. and Wang, S.P.** (1990). A new respiratory tract pathogen. *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. J. Infect. Dis. **161**:618-625.
16. **Hahn D. L., Dodge, R. W. and Golubjatnikow, R.** (1991). Association of *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma. JAMA **266**: 225-230
17. **Saikku P., Mattila, K., Nieminen, M.S., Huttunen, J.K., Leinonen, M., Ekman, 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 infection. Lancet **II**:983-986.
18. **Tsunekawa, T. and Kumamoto, Y.** (1989) A study of IgA and IgG titers of *C. trachomatis* in serum and prostatic secretion in chronic prostatitis. J.J.A. Inf. Dis. **63(2)**: 130-137.
19. **Kaneti, J., et al.,** (1988). IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in acute epididymitis. Europ. Urol. **14**: 323-327.
20. **Sarov, I., Kleinman, D., Cevenini, R., Holcberg, G., Potashnik, G., Sarov, B. and Insler, V.** (1986). Specific IgG and IgA antibodies to *Chlamydia trachomatis* in infertile women. Int. J. Fertil. **31 (3)**:193-197.



**Representante Europeu Autorizado : 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](mailto:mail@obelis.net) Tlm: +32.475.45.46.60