



SeroCT™ IgG (RT)

**ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
pro stanovení protilátek IgG proti *Ch. trachomatis* v lidském séru.**

**Návod k použití Testovací souprava pro 96
stanovení.**

(Katalogové č. 1181-01)

Skladujte při 2 – 8°C. **Nezmrazujte.**

Pouze pro profesionální použití

Pouze pro *in vitro* stanovení.

Dovází: GALI spol. s r.o.

Ke Stadionu 179, Semily 513 01

Tel. 481 689 050

Fax. 481 689 051

E-mail: info@gali.cz

Vyrábí: Savyon Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003

ISRAEL

Tel. +972.8.8562920

Fax. +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Použití

SeroCT™ RT IgG souprava se používá pro stanovení specifických IgG protilátek proti *Ch. trachomatis* ve vzorku lidského séra metodou ELISA.

Jedná se o kvalitativní ELISA test nové generace, který využívá specifické, syntetické peptidy *ch. trachomatis*.

Používá se jako diagnostická pomůcka při stanovení infekce *ch. trachomatis*, společně s kitem Savyon® SeroCT™ RT IgA.

Pro *In Vitro* diagnostické účely.

Úvod

Chlamydie jsou gram-negativní, obligátní intracelulární parazitující bakterie, které u savců způsobují akutní a chronická onemocnění. Vyskytují se čtyři druhy: *Ch. trachomatis*, *Ch. pneumoniae*, *Ch. psittaci* a *Ch. pecorum* (1-4).

Ch. trachomatis je rozdělena do 15 sérovarů (5-8). Sérovary A, B, Ba a C se pojí s trachomem (9). Sérovary L₁ - L₃ jsou odpovědné za infekční venerickou chorobu postihující lymfatickou tkáň. Sérovary D až K se pojí se sexuálními přenosnými infekčními onemocněními: cervicitida, endometritida, salpingitida (10) u žen a zánět močového (11) u žen i u mužů. Endometritida/salpingitida může vést k tubální okluzi s vysokým rizikem mimoděložního těhotenství a infertility. Genitální infekce může být příčinou akutní nebo přetrvávající infekce, někdy bez jakýchkoli klinických

příznaků. Pokud se onemocnění diagnostikuje, je léčitelné. Bez léčby toto onemocnění postupuje a může být příčinou chronických zánětů vedoucích k infertilitě, mimoděložnímu těhotenství, umělým potratům, předčasným porodům. Mimoto, novorozenec nakažený matky může být infikován během porodu, což může být příčinou zánětu oční spojivky nebo pneumonie (12-14). Sérologické stanovení protilátek proti *Ch. trachomatis* je důležitější u chronických infekcí než u infekcí akutních.

Ch. pneumoniae je důležitý respirační patogen, bývá nalezena asi u 10 % starších dospělých s „community acquired“ pneumonií. *Ch. pneumoniae* je asociována s infekcemi horních a dolních cest dýchacích, pneumonií, astmatem, bronchitidou, faryngitidou, výskytem srpkovitých erytrocytů, koronárním srdečním onemocněním a Guillain-Barre syndromem (15-17).

Ch. psittaci jsou primárními patogeny různých druhů živočichů. Měkčíši, ptáci, savci, mohou být důvodem některých případů pneumonií. U savců, *C. psittaci* a *C. pecorum*, jsou původci onemocnění a symptomů jako jsou pneumonie, enteritis, polyserositis, encefalitis a konjunktivitida.

Sérologické testování, které se dnes provádí po celém světě, poskytuje přesné a relevantní informace při diagnostice infekcí *C. trachomatis*. Při podezření na akutní infekci odběr vzorku séra snižuje potřebu provádění invazivních metod, které jsou potřebné pro přímou detekci antigenu. V případě infekce dolní části urogenitálního traktu jsou při odběru séra eliminovány problémy s neefektivním odběrem vzorku z uretry atd., manipulací se vzorkem a jeho transportem. Je důležité si uvědomovat, že většina chlamydiových infekcí je asymptomatická. Infekce může v těle pacienta přetrvávat dlouhou dobu, může se dostávat do vyšších částí genitálního traktu a způsobovat hlubokou a chronickou infekci. Tento jev může vést k vyššímu výskytu falešně negativních výsledků při přímé detekci antigenu.

Sérologické testy na *ch. trachomatis*, umožňující detekci specifických protilátek, jsou v současné době akceptovatelnou, efektivní metodou (10, 11, 18, 19). Díky markerům IgG, IgM a IgA můžeme určit přítomnost a stav infekce.

Protilátky ve třídě IgM vypovídají o akutní infekci, jejich absence nevylučuje přítomnost začínající infekce, zvláště jedná-li se o opakující nebo chronickou infekci. Specifické IgA protilátky jsou důležitým markerem aktivní chlamydiové infekce, díky své krátké době výskytu. Přetrvávají po dobu antigenní stimulace. IgG je markerem probíhající, chronické nebo prodělané infekce.

Mezi třemi různými druhy chlamydií se vyskytuje zkřížená reaktivita. Ve většině diagnostických souprav pro detekci chlamydií se jako antigeny používají jak purifikované elementární tělíska: mikroimunofluorescence (MIF) a ELISA, tak lipopolisacharidy (LPS), nebo purifikované membránové proteiny (MOMP). Všechny uvedené antigeny obsahují rodově specifické epitopy, což má za následek nízkou druhovou specifitu. Veliké procento populace prodělává *ch. pneumoniae* (bez klinických příznaků), prevalence anti-chlamydiových protilátek je vysoká. Z tohoto důvodu, se rozlišení mezi specifickými protilátkami *ch. pneumoniae* a *ch. trachomatis*, konvenčními serologickými testy (MIF, ELISA, EIA, ...) jeví jako nedostatečné.

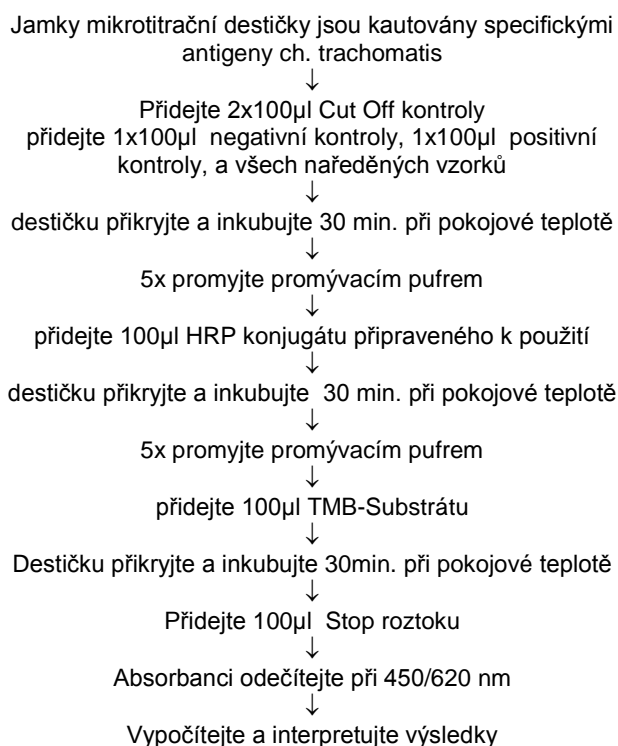
Savyon® Diagnostics v testu na *ch. trachomatis* používá specifické epitopy, derivované z různých serotypů. Je tak

zabráněno druhově-zkřížené reaktivitě epitopů, což má za následek vyšší přesnost a specifitu stanovení protilátek proti ch. trachomatis ve třídě IgG a IgA.

Princip testu.

- SeroCT™ RT destička je pokryta specifickými peptidy ch. trachomatis.
- Naředené testované sérum se inkubuje v Sero CT™ RT jamkách mikrotitrační destičky 30 min. při pokojové teplotě (RT). Specifická protilátka přítomná v séru pacienta se naváže na antigen navázaný na mikrodestičce.
- Nespecifické protilátky jsou odstraněny promytím.
- Dále se přidává křenová peroxidáza (HRP) konjugovaná s anti-lidskou IgG, inkubace 30 min. při pokojové teplotě. Jestliže v prvním kroku vznikl komplex antigen-protilátka, HRP značená protilátka se naváže na protilátku a vytvoří komplex.
- Nenavázaný konjugát je odstraněn promytím.
- V dalším kroku je do jamek přidáván chromogenní substrát, který při pozitivní enzymatické reakci vytvoří modré zbarvení.
- Enzymatická reakce je ukončena stop činidlem (1M H₂SO₄). Modré zbarvení se změní na žluté. Absorbance se měří při 450/620 nm.
- Hodnota absorbance je proporcionálně úměrná hladině specifických protilátek navázaných na kautované antigeny.

Přehled kroků: Manuálně/Automatizovaně*



*Automatizovaná procedura

20-ti minutová inkubace vzorků
5 promývacích cyklů

Součásti kitu: pro Manuální/Automatizované použití

Souprava na 96 stanovení

Kat.č. A1181-01M / A1181-01D

1. **Mikrotitrační destička kautovaná specifickými peptidy ch. trachomatis:** 96 odlamovatelných jamek (8x12), zabalené v hliníkové fólii se sušidlem.
1 destička / 1 destička
2. **Konzentrováný promývací pufr (20X):** PBS - Tween pufr.
1 lahvička, 100 ml / 1 lahvička, 100 ml
3. **Roztok na ředění sér-RT (modrý):** v pracovní koncentraci. S obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 30 ml / 1 lahvička, 60 ml
4. **HRP-konjugát připraven k použití (zelený):** Křenovou peroxidázou (HRP) značený anti-lidský IgG (gamma řetězec specifický). S obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvičky, 10ml
5. **Cut Off Kontrola:** *C. trachomatis* IgG sérum připravené k použití pro cut off determinaci. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2,5 ml / 1 lahvička, 2,5 ml
6. **Negativní kontrola:** V pracovní koncentraci. Lidské sérum negativní na IgG. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku..
1 lahvička, 2 ml / 1 lahvička, 2 ml
7. **Positivní kontrola:** V pracovní koncentraci. Lidské sérum pozitivní na IgG. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2 ml / 1 lahvička, 2 ml
8. **TMB substrát:** v pracovní koncentraci, obsahuje 3,3',5,5'- tetramethylbenzidin jako chromogen a peroxid jako substrát
1 lahvička, 14 ml / 1 lahvička, 16 ml
9. **Stop roztok:** V pracovní koncentraci.. Obsahující 1M H₂SO₄.
1 lahvička, 15 ml / 1 lahvička, 16 ml
10. **Fólie na přikrytí destiček:** **1 / není**
11. **Návod k použití:** **1 / 1**

Potřebný materiál, nedodávaný v soupravě

1. naprosto čisté zkumavky pro ředění séra pacienta
2. vhodné mikropipety nebo multi-kanálové pipety (5-50, 50-200 a 200-1000 μl) a špičky
3. jednolitrová volumetrická láhev
4. 50 ml volumetrický válec
5. promývač ELISA destiček nebo promývací nádoba
6. filtrační papír
7. vortexové míchadlo
8. reader s filtrem 450/620 nm pro měření mikrodestiček
9. destilovaná nebo dvakrát deionizovaná voda pro ředění promývacího pufru (Wash Buffer)

Upozornění

Pouze pro in-vitro diagnostické použití

- Tato souprava obsahuje lidská séra, která byla testována technikami podle FDA. Séra jsou negativní na HBsAg a protilátky proti HCV a HIV 1 & 2, nicméně, jelikož žádná známá metoda nemůže zaručit s úplnou jistotou, že výrobky derivované z lidské krve nepřenášejí infekci, se všemi komponenty z lidské krve, obsaženými v této soupravě se musí zacházet jako s potencionálně infekčním sérem nebo krví, způsobem identickým (nebo podobným) s doporučením publikovaným v CDC/NIH manuálu „Biobezpečnost mikrobiologických a lékařských laboratořích“, 1988.
- Roztok chromogenního substrátu působí dráždivě na pokožku a mukózní membrány. Vyvarujte se přímého kontaktu.
- Všechny součásti kitu jsou kalibrovány na danou šarži. Kombinování součástí kitů různých šarží může ovlivnit výsledek stanovení.
- Kyselina sírová 1M, je pro oči a pokožku dráždivá. V případě kontaktu s oční sliznicí, vyplachujte oko proudem vody.

Uchovávání a trvanlivost reagensů

1. Všechny dodávané materiály je nutno skladovat při teplotě 2 až 8°C. Reagencie, uchovávané při teplotě 2 až 8°C, jsou stabilní do data expirace, vyznačeného na obalu soupravy. Expozice složek soupravy obyčejné teplotě po dobu několika hodin nezpůsobí zničení reagensů. **Reagencie nezmrazujte.**
2. Životnost kitu po otevření je 90 dní.
3. Nepoužité stripy se musí skladovat v hliníkové fólii společně se sušidlem.
4. V koncentrovaném promývacím pufru 20x se mohou během skladování tvořit krystalky. Toto je běžné. Krystalky rozpustíte zahřátím pufru na 37°C ještě před jeho ředěním. Naředěný pufr skladujte při 2-8°C a to po dobu maximálně 21 dní.

Odběr vzorků

Vzorky sér se odebírají asepticky standardními technikami. Tepelně inaktivovaná séra nemohou být použita. Nedoporučuje se použití lipemických, zakalených a kontaminovaných sér. Drobné částice a sraženiny v séru mohou způsobovat chybné výsledky. Tyto vzorky by měly být před stanovením vyčiřeny centrifugací nebo filtrací.

Skladování vzorků

Vzorky by se měly skladovat při teplotě 2-8°C pokud jsou testovány během 7 dní (doporučuje se přidavek 0,1% azidu sodného). Pro delší uchování je nutno alikvoty séra uchovávat při teplotě -20°C. Vyhněte se opakovanému mrazení a rozmrazování séra.

Pracovní postup pro Manuální použití

Tento pracovní postup je pro manuální použití, pro automatizované použití viz pracovní postup níže.

A. Příprava reagensů.

1. Všechny testovací reagenty a vzorky před použitím vytemperujte na laboratorní teplotu. Před použitím dobře promíchejte Cut Off kontrolu, negativní kontrolu, pozitivní kontrolu a testované vzorky sér.
2. Určete celkové množství jamek potřebných na testování. Kromě vzorků pacienta musí být v každém měření zahrnuty dvě jamky pro Cut Off kontrolu, jedna jamka pro negativní kontrolu a jedna jamka pro pozitivní kontrolu.
3. Vyjměte mikrodestičku z hliníkové folie rozstřížením jednoho konce blízko sváru. Odeberte potřebné množství stripů (odpovídající množství testovaných vzorků) z 96 jamkového rámečku.
4. Zřeďte 1/20 koncentrovaný promývací pufr deionizovanou nebo destilovanou vodou. Pro příklad: pro přípravu 1L promývacího pufru přidejte k 50ml koncentrovaného roztoku promývacího pufru 950ml dvakrát deionizované nebo destilované vody.

B. Inkubace vzorků sér a kontrol.

5. Nařeďte každý vzorek pacienta roztokem na ředění sér-RT v poměru 1/11 následovně: Přidejte 25µl séra pacienta k 250µl roztoku na ředění sér-RT.
6. Pipetujte Cut Off kontrolu v duplikátu: 100µl do každé jamky. Pipetujte 100µl negativní kontroly, 100µl pozitivní kontroly a 100µl sér naředěných v poměru 1/11 do příslušných jamek na stripu.
7. Přikryjte strip víčkem a inkubujte 30 min. při laboratorní teplotě (22 – 28°C).
8. Odstraňte přebytečné tekutiny z jamek.
9. **Promývací krok:** naplňte každou jamku promývacím pufrům (300-350µl) po okraj a poté tekutinu odstraňte. Postup opakujte 4x.
10. Osušte stripy a rámeček jemným poklepáním na absorpčním papíru.

C. Inkubace s konjugátem.

11. Pipetujte 100µl HRP konjugátu připraveného k použití do každé jamky.
12. Přikryjte strip víčkem a inkubujte 30 min. při laboratorní teplotě (22 – 28°C).
13. Odstraňte přebytečné tekutiny z jamek a proveďte promývací krok, jak je uvedeno v bodě 9-10.

D. Inkubování s TMB-substrátem.

14. Pipetujte 100µl roztoku TMB-Substrátu do každé z jamek, přikryjte víčkem a inkubujte při laboratorní teplotě (22 – 28°C) po dobu **30 min.**
15. Reakci ukončete přidáním 100 µl Stop roztoku (1M H₂SO₄) do každé z jamek.

E. Odečtení výsledků.

16. Proměňte absorbanci při 450/620 nm a výsledek zapište. Odečtení může být provedeno do 30 min od zastavení chromogenní reakce.

Pozn.: Před odečtením nesmí jamka obsahovat žádné bublinky. Dno destičky musí být opatrně otřeno.

Pracovní postup pro Automatizované použití

Objemy lahvíček a reagensů byly uzpůsobeny pro automatizované použití.

A. Příprava reagensů.

- Všechny testovací reagenty a vzorky před použitím vytemperujte na laboratorní teplotu. Před použitím dobře promíchejte Cut Off kontrolu, negativní kontrolu, pozitivní kontrolu a testované vzorky sér.
- Určete celkové množství jamek potřebných na testování. Kromě vzorků pacienta musí být v každém měření zahrnuty dvě jamky pro Cut Off kontrolu, jedna jamka pro negativní kontrolu a jedna jamka pro pozitivní kontrolu.
- Vyjměte mikrodestičku z hliníkové folie rozstřížením jednoho konce blízko sváru. Odeberte potřebné množství stripů (odpovídající množství testovaných vzorků) z 96 jamkového rámečku.
- Zředte 1/20 koncentrovaný promývací pufr deionizovanou nebo destilovanou vodou. Pro příklad: pro přípravu 1L promývacího pufru přidejte k 50ml koncentrovaného roztoku promývacího pufru 950ml dvakrát deionizované nebo destilované vody.

B. Inkubace vzorků sér a kontrol.

- Naředte každé sérum pacienta v poměru 1/11 následovně: Odpipetujte 250 μ l roztoku na ředění sér-RT do každé zkumavky na vzorky. Přidejte 25 μ l séra pacienta do každé zkumavky.
- Pipetujte 100 μ l negativní kontroly, 100 μ l pozitivní kontroly, 2 x 100 μ l (v duplikátu) Cut Off kontroly a 100 μ l sér naředěných v poměru 1/11 do příslušných jamek na stripu.
- Inkubujte 20 min. při laboratorní teplotě (22 – 28°C).
- Eliminujte "assay drift", který může být způsoben předchozími kroky.
- Promývací krok:** Provedte 5 promývacích cyklů za využití 500 μ l promývacího pufru.
- Provedte 2 aspirační cykly pro vysušení.

C. Inkubace s konjugátem.

- Pipetujte 100 μ l HRP konjugátu připraveného k použití do každé jamky.
- Inkubujte 30 min. při laboratorní teplotě (22 – 28°C).
- Provedte promývací krok tak, jak je uvedeno v bodě 9-10.

D. Inkubování s TMB-substrátem.

- Odpipetujte 100 μ l roztoku TMB-Substrátu do každé z jamek a inkubujte ve tmě při laboratorní teplotě (22-28°C) po dobu 30 min.
- Reakci ukončete přidáním 100 μ l roztoku Stop roztoku (1M H₂SO₄) do každé z jamek.

E. Odečtení výsledků.

- Proměřte absorbanci při 450/620 nm a výsledek zapište. Odečtení může být provedeno do 30 min od zastavení chromogenní reakce.

Vezměte prosím na vědomí, že každý automatický přístroj má své specifické technické požadavky. Prosím aplikujte automatizovaný pracovní postup pro tuto soupravu do operačního protokolu Vašeho automatického přístroje.

Validita testu

Aby byl test považován za validní, musí být splněny následující podmínky. Pokud nejsou splněny tyto podmínky, není test validní a musí být zopakován.

- O.D. Pozitivní kontrola $\geq 0,8$
- Poměr O.D. Pozitivní kontrola / O.D. Cut Off kontrola > 2
- O.D. Negativní kontrola $< 0,3$

Výpočet výsledků testu

- Vypočítejte průměrnou hodnotu absorbance Cut Off kontrol, které byly analyzovány v duplikátu.
- Aby byly výsledky získané z různých testů normalizované, vypočítává se hodnota COI (cut off index) podle následujícího vztahu:

$$COI = \frac{O.D. (optická hustota, absorbance) vzorku séra}{Průměr O.D. Cut Off kontrol}$$

Interpretace výsledků

Tabulka 1:

COI	Výsledek	Interpretace výsledků
<1.0	Negativní	Nedetekovatelné IgG protilátky proti <i>Ch. trach.</i>
1-1.1	Hraniční	Přítomnost či nepřítomnost detekovatelných (hraničních) hladin IgG protilátek, která není přesně stanovena. Po 2-3 týdnech by se měl odebrat a testovat druhý vzorek séra. (Pokud je i druhý vzorek hraniční, měl by se výsledek považovat za negativní)
>1.1	Positivní	Významná hladina IgG protilátek proti <i>Ch. trach.</i>

Tabulka 2: Interpretace výsledků založených na detekci IgG a IgA protilátek.

IgG	IgA	Interpretace výsledků
Negativní	Negativní	Negativní (nebo pod citlivostí testu)
Positivní	Negativní nebo hraniční	Vypovídá o minulé nebo současné infekci
Hraniční	Hraniční	Po 2-3 týdnech by se měl odebrat a testovat druhý vzorek séra. (Pokud je i druhý vzorek hraniční, měl by se výsledek považovat za negativní)
Positivní	Positivní	Vypovídá o akutní nebo chronické infekci.
Negativní	Positivní	Vypovídá o akutní nebo chronické infekci.

Chování testu

Tabulka 3: Sensitivita a Specifická

Senzitivita a Specifická testu SeroCT RT IgG byla vypočítána za využití sér negativních či pozitivních na protilátky proti *Ch. trachomatis*. Séra byla předem analyzována pomocí imunofluorescenční soupravy Chlamydia IgG SeroFIA™ (Savyon Diagnostics LTD.). Studie byla provedena na 50 vzorcích séra.

SeroFIA™	SeroCT™RT-IgG	
	Positivní	Negativní
Positivní	21	20
Negativní	29	0
Celkem	50	30

Senzitivita: $20/21 \times 100 = 95\%$

Specifická: $29/29 \times 100 = 100\%$

Celková shoda: $49/50 \times 100 = 98\%$

Přesnost

Tabulka 4: Intra-assay (uvnitř běhu), níže je uvedena přesnost testu SeroCT™RT – IgG:

Vzorek	Počet opakování	Střední hodnota	CV%
Positivní	10	1.140	6,5
Negativní	10	0.058	9,3

Tabulka 5: Inter-assay (mezi běhy), níže je uvedena přesnost testu SeroCT™RT – IgG:

Vzorek	Počet opakování	Střední hodnota	CV%
Positivní	10	2.159	3,5
Negativní	10	0.080	7,5

Omezení testu

1. Jednotlivé sérologické testy nemohou být používány jako jediné kritérium pro stanovení diagnózy. Musí se brát v úvahu všechny klinické a laboratorní výsledky.
2. Vzorky, které byly odebrány příliš brzo během primární infekce nemusí obsahovat detekovatelné množství protilátek. Pokud je podezření na chlamydiovou infekci, měl by se během 2-3 týdnů odebrat další vzorek na analýzu. Ten by se měl testovat paralelně s prvním vzorkem.

Literatura

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, M.(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. Fukushima, 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. Treharne 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. z(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. **Saikka 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.



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