



SeroCT™ IgG

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

Testovací souprava pro 96 stanovení.
(Katalogové č. A181-01)

Testovací souprava pro 192 stanovení.
(Katalogové č. B181-01)

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

Pouze pro profesionální použití

Pouze pro *in vitro* stanovení.

Dovází: GALI spol. s r.o.

Libštát 314, 512 03

Tel. 481 689 050

Fax. 481 689 051

E-mail: info@gali.cz

Vyrábí: Savyon Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 77610

ISRAEL

Tel. +972.8.8562920

Fax. +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Použití

SeroCT™-IgA souprava se používá pro stanovení specifických IgA 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™-IgG.

Pro *In Vitro* diagnostické účely.

Úvod

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

Ch. trachomatis je rozdělena do 15 sérotypů(1). Seropty A, B, Ba a C se pojí s trachomem (2). Seropty L₁ - L₃ jsou odpovědné za infekční venerickou chorobu postihující lymfatickou tkáň. D až K se pojí se sexuálně přenosnými infekčními onemocněními: cervicitida, endometritida, salpingitida (3) u žen a zánět močovodu (4) u žen i u mužů. Endometritida/salpingitida může vést k tubální okluzi s vysokým rizikem mimoděložního těhotenství a infertilitě.

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 nakažené matky může být infikován během porodu, což může být příčinou zánětu oční spojivky nebo pneumonie (5).

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 (6).

Ch. psittaci jsou primárními patogeny různých druhů živočichů. Měkkýši, ptáci, savci, mohou být důvodem některých případů pneumonií.

Serologické testy na *Ch. trachomatis*, umožňující detekci specifických protilátek, jsou v současné době akceptovatelnou, efektivní metodou. 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 tělíška: 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 specificitu. 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 specificitu stanovení protilátek proti *Ch. trachomatis* ve třídě IgG a IgA.

Princip testu.

- SeroCT™- destička je pokryta specifickými peptidy *Ch. trachomatis*.
- Naředěné testované sérum, se inkubuje v jamkách mikrotitrační destičky 1 hodinu při 37°C. Specifická protilátka přítomná v séru pacienta se naváže na antigen navázaný na mikrodestičce.
- Nespecifické protilátky jsou odstraněny promytím.
- Dále se přidává křemová peroxidáza (HRP) konjugovaná s anti-lidskou IgG, inkubace 1 hodina při 37°C. 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 450nm.
- Hodnota absorbance je proporcionálně úměrná hladině specifických protilátek navázaných na kautované antigeny.

Přehled kroků

Jamky mikrotitrační destičky jsou kautovány specifickými antigeny ch. trachomatis

↓

přidejte 2x50μl negativní kontroly, 1x50μl pozitivní kontroly, a všech nařaděných vzorků

↓

destičku přikryjte a inkubujte 1h při 37°C ve 100% vlhkosti

↓

3x promyjte promývacím pufr

↓

přidejte 50μl HRP konjugátu nařaděného v poměru 1/300

↓

destičku přikryjte a inkubujte 1h při 37°C ve 100% vlhkosti

↓

3x promyjte promývacím pufr

↓

přidejte 100μl TMB-Substrátu

↓

Destičku přikryjte a inkubujte 15min při laboratorní teplotě

↓

přidejte 100μl Stop roztoku

↓

Absorbanci odečtěte při 450nm

↓

Vypočítejte a interpretujte výsledky

Součásti kitu

Souprava na 96 stanovení Kat.č. A181-01M

1. **Mikrotitrační destička kautovaná specifickými peptidy ch.trachomatis:** 96 odlamovatelných jamek (8x12), zabalené v hliníkové fólii se sušidlem.
1 destička
2. **Koncentrovaný promývací pufr (20X):** PBS - Tween pufr.
1 lahvička, 100 ml
3. **Roztok k ředění sér (modrý):** v pracovní koncentraci, S obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 30 ml
4. **Roztok k ředění konjugátu (zelený):** V pracovní koncentraci. S obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 40 ml
5. **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, 2.5 ml

6. **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
7. **Koncentrovaný HRP konjugát (300x):** anti-lidské IgG (gama řetězec specifický). S obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 0.2 ml
8. **TMB substrát:** v pracovní koncentraci, obsahuje 3,3',5,5'- tetramethylbenzidin jako chromogen a peroxid jako substrát
1 lahvička, 14 ml
9. **Stop roztok:** V pracovní koncentraci.. Obsahující 1M H₂SO₄.
1 lahvička, 15 ml
10. **Fólie na přikrytí destiček:** **1**
11. **Návod k použití:** **1**

Souprava na 192 stanovení Kat.č. B181-01M

1. **Mikrotitrační destička kautovaná specifickými peptidy ch.trachomatis:** 96 odlamovatelných jamek (8x12), zabalené v hliníkové fólii se sušidlem.
2 destičky
2. **Koncentrovaný promývací pufr (20X):** PBS - Tween pufr.
2 lahvičky, 100 ml v každé
3. **Roztok k ředění sér (modrý):** v pracovní koncentraci, S obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 60 ml
4. **Roztok k ředění konjugátu (zelený):** V pracovní koncentraci. S obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 80 ml
5. **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, 2.4 ml
6. **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, 1.25 ml
7. **Koncentrovaný HRP konjugát (300x):** anti-lidské IgG (gama řetězec specifický). S obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 0.2 ml
8. **TMB substrát:** v pracovní koncentraci, obsahuje 3,3',5,5'- tetramethylbenzidin jako chromogen a peroxid jako substrát
1 lahvička, 24 ml
9. **Stop roztok:** V pracovní koncentraci.. Obsahující 1M H₂SO₄.
1 lahvička, 30 ml
10. **Fólie na přikrytí destiček:** **2**
11. **Návod k použití:** **1**

Potřebný materiál, nedodávaný v soupravě

1. naprosto čisté zkumavky pro ředění séra pacienta
2. plastové zkumavky na jedno použití pro ředění HRP Conjugated Anti-Human IgA
3. vhodné mikropipety nebo multi-kanálové pipety (5-50, 50-200 a 200-1000 μ l) a špičky
4. jednolitrová volumetrická láhev
5. 50 ml volumetrický válec
6. promývač ELISA destiček nebo promývací nádoba
7. filtrační papír
8. vortexové míchadlo
9. vodní lázeň s víčkem ($37 \pm 1^\circ\text{C}$) nebo mížná komora umístěná v inkubátoru ($37 \pm 1^\circ\text{C}$)
10. reader s filtrem 450 nm pro měření mikrodestiček
11. 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, 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 potenciálně 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 dodávaný materiál 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 vyčeřeny 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 - Manuale

Aplikační listy pro automatické zpracování jsou na vyžádání

A. Příprava reagensů.

1. Všechny testovací reagentie a vzorky před použitím vytemperujte na laboratorní teplotu. Před použitím dobře promíchejte 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 negativní kontrolu, 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. 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.

5. naředte každý vzorek pacienta v poměru 1/21 následovně: přidejte 10 μ l séra pacienta k 200 μ l roztoku pro ředění sér (1/21).
6. Pipetujte 50 μ l negativní kontroly, 50 μ l pozitivní kontroly, a 50 μ l sér naředěných v poměru 1/21 do příslušných jamek na stripu. Negativní kontrola se pipetuje do dvou jamek.
7. Přikryjte strip víčkem a dejte inkubovat na 1 hodinu do mížné komory (37°C).
8. Odstraňte přebytečné tekutiny z jamek.
9. **Promývací krok:** naplňte každou jamku promývacím pufrům (300-350 μ l) po okraj a poté tekutinu odstraňte. Postup opakujte 3x.
10. Osušte stripy a rámeček jemným poklepáním na absorpčním papíru.

C. Inkubace s konjugátem.

11. Koncentrovaný roztok HRP-konjugátu IgG zředte do pracovní koncentrace těsně před použitím v poměru 1/300 roztokem Conjugate Diluent. Např. pro dva stripy připravte minimálně 3ml zředěného HRP-konjugátu následovně: 10 μ l koncentrovaného

roztoku HRP-konjugátu IgG a smíchejte s 3ml roztoku Conjugate Diluent.

12. Odpipetujte 50 μ l zředěného konjugátu do každé z jamek.
13. Přikryjte strip víčkem a inkubujte 1 hodinu při 37°C v mlžné komoře.
14. Odstraňte přebytečné tekutiny z jamek a proveďte promývací krok, jak je uvedeno v bodě 9-10.

D. Inkubování s TMB-substrátem.

15. Odpipetujte 100 μ l roztoku TMB-Substrátu do každé z jamek, přikryjte víčkem a inkubujte při laboratorní teplotě **15 min.**
16. Reakci ukončete přidáním 100 μ l roztoku Stop roztoku (1 M H₂SO₄) do každé z jamek.

E. Odečtení výsledků.

17. Proměřte absorbanci při 450nm 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.

Kritéria testu

Test je validní jestliže:

- absorbance pozitivní kontroly je $\geq 0,8$ při 450 nm
- absorbance negativní kontroly je $0,1 < NC \leq 0,4$ při 450 nm

Pokud nejsou splněny tyto podmínky, není test validní a musí být zopakován.

Výpočet hodnoty Cut-Off (COV) a Cut-off indexu (COI)

Vzorec pro vypočítání hodnoty Cut-Off:

$$COV = NC \times 2$$

NC = průměrná absorbance negativní kontroly při 450 nm
K normalizaci výsledků získaných různými testy se výsledek udává v cut-off indexu (COI), a počítá následovně.

$$COI = \text{absorbance vzorku séra při 450nm} / COV$$

Vyhodnocení testu

Tabulka 1: Korelace mezi absorbancí a přítomností protilátek.

Absorbance at 450nm	COI	Výsledek	Diagnostická Interpretace
$O.D < COV$	<1.0	Negativní	Nedetekovatelné IgA protilátky
$COV \leq O.D \leq 1.1 \times COV$	1-1.1	Hraniční	Po 2-4 týdnech by se měl odebrat a testovat druhý vzorek séra. (Pokud je i druhý vzorek hraniční, měl by se výsledek považovat za negativní)
$O.D > 1.1 \times COV$	>1.1	Positivní	Významná hladina IgA protilátek

Interpretace výsledků založených na detekci IgA a IgG protilátek.

Tabulka 2: Hladiny specifických 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 2-4 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.

Omezení testu

- Jednotlivé serologické testy nemohou být používány jako jediné kritérium pro stanovení diagnózy. Musí se brát v úvahu všechny klinické a laboratorní výsledky.
- Vzorky, které byly odebrány příliš brzo během primární infekce nemusí obsahovat detekovatelné množství protilátek. Pokud je podezření na chlamydiovou infekci, měl by se během 2-4 týdnů odebrat další vzorek na analýzu. Ten by se měl testovat paralelně s prvním vzorkem.

Chování testu SeroCT™-IgG

Tabulka 3: Sensitivita testu SeroCT™-IgG ve srovnání s kultivací.

Studie byla provedena v referenční laboratoři, na skupině pacientů s pozitivním výsledkem z kultivace *C.trachomatis*.

Kultivace Positivní	SeroCT™-IgG	
	Positivní	Negativní
45	35	10

$$\text{Sensitivita: } 35/45 \times 100 = 78\%$$

Tabulka 4: Sensitivita a Specifická testu SeroCT™-IgG ve srovnání s mikroimmunofluorescenčním testem (MIF)

Studie byla provedena na skupině pacientů, u kterých bylo podezření na infekci *C.trachomatis*. Test SeroCT™-IgG byl srovnáván s komerční MIF soupravou.

MIF		SeroCT™-IgG	
		Positivní	Negativní
Positivní	58	55	3
Negativní	50	5	45
Celkem	108	60	48

$$\text{Sensitivita: } 55/58 \times 100 = 95\%$$

$$\text{Specifická: } 45/50 \times 100 = 90\%$$

$$\text{Celková shoda: } 100/108 \times 100 = 93\%$$

Tabulka 5: Specificita testu SeroCT™-IgG získaná na různých kontrolních skupinách

Testovaná skupina	Počet sér	Negativní testem SeroCT™ IgG	Specificita testu SeroCT™ IgG (%)
Dárci krve	250	230	92
Jedinci negativní na <i>C.trachomatis</i> a pozitivní na <i>C.pneumoniae</i> (MIF)	35	33	94
Zdravé děti	30	29	97
Zdravé těhotné ženy	30	28	93

Tabulka 6: Specificita testu SeroCT™ IgG ve srovnání s 2. různými MIF testy

Specificita testu SeroCT™ –IgG byla srovnávána ve dvou nezávislých studiích, užitím dvou různých MIF testů. Vzorok sér, použité v obou studiích byly testovány na *C.trachomatis* a *C.pneumoniae*, a sledány v obou případech negativní (MIF Ct-/Cp-) a nebo negativní protilátky na *C.trachomatis*, pozitivní na *C.pneumoniae* (MIF Ct-/Cp+).

	MIF Ct-/Cp-	MIF Ct-/Cp+	SeroCT™ IgG Negativní	Specificita testu SeroCT™ IgG (%)
Studie #1 (jiná MIF)	0	64	58	91
Studie #2 (SeroFIA™ Savyon)	30	100	117	90

Závěr: SeroCT™ – IgG vykazuje specificitu vyšší než 90% pro *C.trachomatis*.

Přesnost

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

Vzorek	Počet opakování	Střední hodnota	CV%
Positivní	10	0.835	2.5
Negativní	10	0.146	8.8

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

Vzorek	Počet opakování	Střední hodnota	CV%
Positivní	10	0.902	2.9
Negativní	10	0.167	5.5

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. 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. 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. **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.



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