



SeroFIA™ IgA Chlamydia

Référence: SAV 513-01

Technique en Immunofluorescence indirecte (IFI) sur lame pour la détection spécifique des anticorps IgA anti-*Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* et *Chlamydia trachomatis* dans le sérum

Kit complet pur 3 x 105 déterminations

Conserver à 2-8°C. Ne pas congeler
Pour usage professionnel uniquement
Pour usage *in vitro*.



Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003

ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

UTILISATION

SeroFIA™ IgA Chlamydia est une nouvelle technique en Immunofluorescence pour le diagnostic clinique des infections à *Chlamydia pneumoniae*, mais aussi à *Chlamydia psittaci* et *Chlamydia trachomatis*. Ce test permet la détermination qualitative et semi-quantitative des anticorps IgA spécifiques dans un seul et même échantillon de sérum humain.

Pour diagnostic *in vitro*

PRINCIPE DE LA METHODE

SeroFIA™ IgA Chlamydia est une technique en immunofluorescence en phase solide, exécutée sur une lame à 21 puits enduite d'antigènes. Des corps élémentaires purifiés (CE) de *C. pneumoniae* (*C.pn*), *C. trachomatis* (*C. tr*) et *C. psittaci* (*C.ps*), utilisés comme antigènes, sont fixés sur les puits de la lame, chacun occupant une rangée différente de celle-ci. Des sérums de patients dilués sont disposés sur les antigènes correspondants de chaque rangée. Après l'incubation, les lames sont lavées afin d'éliminer les composants non fixés du sérum.

Au cours de la deuxième étape, de l'IgA anti-humaine conjuguée à de la fluorescéine est appliquée sur chaque puits. Après incubation et lavage, les lames sont séchées et montées. Elles sont examinées par microscopie à fluorescence. La réaction est positive si des CE fluorescents de couleur vert pomme se détachent sur un fond noir.

Une seule dilution des sérums suffit pour la détermination qualitative. L'analyse semi-quantitative nécessite des séries de dilutions.

COMPOSITION DU COFFRET

Coffret pour 3 x 105 déterminations
référence: SAV 511-01

1. Lames pour immunofluorescence (3x7 puits/unité)

15 lames

Les lames sont enduites d'antigènes de *C. psittaci*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* dans des rangées distinctes. Chaque lame est emballée dans un sachet aluminium contenant un dessiccant.

Fig. 1:



2. Tampon de lavage concentré (20x) 1 flacon, 100ml

Tampon PBS-Tween (pH 7,4-7,6) contenant 2,7 M de NaCl, 0,19 M de Na₂HPO₄, 0,03 M de KH₂PO₄, 0,05 M de KCl et 1% de Tween-20.

3. Diluant pour sérums 1 flacon, 80 ml

Tampons PBS contenant 0,5 % de gélatine, 0,1 % d'albumine sérique bovine, 0,001 M de MgCl₂ et moins de 0,1 % d'azide de sodium. **Prêt à l'emploi.**

4. Contrôle négatif 1 flacon, 0,5 ml

Sérum humain réagissant négativement pour les anticorps IgG, IgA et IgM contre *C. pneumoniae*, *C. trachomatis* et *C. psittaci*. Contient moins de 0,1 % d'azide de sodium. **Prêt à l'emploi.**

5. Contrôle positif *C. psittaci* 1 flacon, 0,2 ml

Sérum humain réagissant positivement pour les anticorps IgA à *C. psittaci*. Contient moins de 0,1 % d'azide de sodium. **Prêt à l'emploi.**

6. Contrôle positif *C. trachomatis* 1 flacon, 0,2 ml

Sérum humain réagissant positivement pour les anticorps IgA contre *C. trachomatis*. Contient moins de 0,1 % d'azide de sodium. **Prêt à l'emploi.**

7. Contrôle positif *C. pneumoniae* 1 flacon, 0,2 ml

Sérum humain réagissant positivement pour les anticorps IgA contre *C. pneumoniae*. Contient moins de 0,1 % d'azide de sodium. **Prêt à l'emploi.**

8. Conjugué-FITC IgA 1 flacon, 3,3 ml

IgA anti-humaine de lapin marquée à la fluorescéine (spécifique de la chaîne α). Contient du contre-colorant au bleu Evans et un stabilisateur protéique. **Prêt à l'emploi.**

9. Liquide de montage 1 flacon, 1,5 ml

Un flacon compte-goutte contenant du glycérol tamponné à la glycine. Le pH du liquide de montage est de 8,6 ± 0,1.

10. Lamelles 15 pièces

11. Notice en français 1

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Plaques ELISA propres ou tubes à hémolyse pour la dilution des sérums des patients.
2. Micropipettes réglables (plages de 5-40, 40-200, 200-1000 microlitres) et pointes jetables.
3. Tube volumétrique (1 litre).
4. Vortex
5. Chambre humide.
6. Etuve à 37°C ± 1 °C
7. Eau distillée ou désionisée en deux passages pour la dilution du tampon de lavage concentré.
8. Pissette en plastique pour le lavage.
9. Porte-lame et bac de coloration.
10. Chronomètre
11. Microscope à fluorescence avec des filtres convenant pour la fluorescence de FITC et objectifs de grossissement 40x et 100x.

AVERTISSEMENT ET PRECAUTIONS

Utilisation *in vitro* seulement.

• Précautions d'emploi

1. Les produits d'origine humaine ont subi un dépistage négatif concernant l'infection à VIH1 et 2, l'Hépatite B, l'Hépatite C, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux.
2. Le matériau antigénique de *Chlamydia* enrobant les lames a été inactivé et ne contient pas de germes vivants détectables. Toutefois, dans la mesure où aucune méthode connue ne peut garantir absolument que les produits tirés d'organismes pathologiques ne transmettent aucune infection, les plaques doivent être manipulées et éliminées comme les matières présentant un danger biologique potentiel, selon les recommandations du manuel CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1988, ou similaires.
3. Il a été rapporté que l'azide de sodium forme des azides de plomb ou de cuivre explosifs dans les tuyauteries des laboratoires. Pour empêcher la formation de ces composés, rincer l'évier et la canalisation avec beaucoup d'eau après avoir jeté les solutions contenant de l'azide.
4. Ne pas pipeter directement à la bouche.
5. Eviter le contact des réactifs du kit avec la peau.
6. Porter des gants jetables pour manipuler les sérums (échantillons et témoins) et le conjugué. Se laver soigneusement les mains après avoir enlevé les gants.
7. L'équipement, les liquides et les autres substances venant en contact direct avec les sérums humains doivent tous être considérés comme potentiellement contaminés. Ils doivent être stérilisés ou inactivés après usage, avant leur élimination ou leur nettoyage. L'inactivation peut être obtenue par un séjour en autoclave à 121°C pendant au moins une heure, ou par traitement avec une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % de concentration finale (eau de Javel) pendant au moins 30 minutes.

8. Le bleu Evans contenu dans le Conjugué-FITC est carcinogène : éviter le contact avec la peau et les yeux.
9. Le liquide de montage contient des ingrédients corrosifs. Eviter le contact avec la peau et l'inhalation. En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer immédiatement à grande eau.

• Stockage et durée de conservation des réactifs

1. Toutes les substances fournies doivent être stockées à 2-8°C. Conservés dans cette plage de température, les réactifs restent stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage du kit. Ne pas utiliser les éléments du kit après la date de péremption.
2. L'exposition des composants du kit à température ambiante ne détériore pas les réactifs si elles se limitent à quelques heures.
3. Protéger les réactifs de la lumière.
4. Ne pas congeler les réactifs.

PRELEVEMENT ET PREPARATIONS DES CHANTILLONS

• Prélèvement des échantillons

Les échantillons de sérum doivent être prélevés de façon aseptique selon des techniques standards, et stockés à 2-8°C pendant 48 heures au maximum. Pour les intervalles plus longs, des aliquotes des échantillons de sérum doivent être conservés à -20 °C. L'analyse des sérums troubles, hémolytiques ou lipémiques peut donner des résultats incohérents, il est donc recommandé de l'éviter.

• Préparation des échantillons – Dépistage

Pour le dépistage initial, diluer les sérums comme indiqué dans le tableau en fonction de l'âge du patient et de l'espèce recherchée :

Espèce Recherchée	Age du patient	Dilution des sérums dépistage
<i>C. pneumoniae</i>	tous patients	1 :32 (10 µl sérum + 310 µl diluant)
<i>C. psittaci</i>	tous patients	1 :32 (10 µl sérum + 310 µl diluant)
<i>C. trachomatis</i>	tous patients	1 :32 (10 µl sérum + 310 µl diluant)

REALISATION DU TEST

Pour chaque essai, il est conseillé de tester un contrôle Positif et un contrôle Négatif pour *C. pneumoniae*, *C. trachomatis* et *C. psittaci*.

Contrôle Positif IgA joint, dilué au 1/128 eme est à interpréter comme un résultat Positif limite.

1. Porter les lames et les réactifs à température ambiante.
2. Diluer le tampon de lavage concentré au 1 :20 en ajoutant 50 ml de tampon de lavage concentré à 950 ml d'eau désionisée en deux passages ou distillée. Le tampon dilué peut être conservé à 2-8°C pendant deux semaines.
3. Avec une pipette, prélever 10 µl des contrôles ou du sérum dilué et les déposer dans les puits appropriés de chacune des trois rangées.

Incuber les lames dans une chambre humide à 37 ± 1°C pendant 30 minutes.

4. Retirer les lames de la chambre humide et rincer doucement chaque lame sous un filet de tampon de lavage dilué, en utilisant une pissette. Laver les lames en les immergeant dans un bac de coloration contenant du tampon de lavage dilué. **Laisser immergé pendant 10 minutes.**
5. Plonger les lames lavées dans de l'eau distillée en deux passages. Retirer et laisser sécher à l'air.
6. Déposer **10 µl de conjugué-FITC IgA** dans chaque puits avec une pipette. **Incuber à 37 ± 1°C pendant 30 minutes.**
7. Répéter le rinçage et le lavage des lames (étapes 4-5).
8. Placer **3 gouttes de liquide de montage** le long de l'axe central de chaque lame. Couvrir avec une lamelle fournie. Éliminer les bulles d'air en appuyant doucement sur la lamelle.
9. Lire les résultats sur un microscope à fluorescence sous un grossissement de 400x ou 1000x. Pour une fluorescence optimale, lire les lames le jour même de l'analyse. Si cela n'est pas possible, les lames montées peuvent être stockées dans l'obscurité à 2°C-8°C pendant 3 jours au moins.

INTERPRETATION DES RESULTATS

- Nous vous conseillons de doser pour chaque patient et en fonction de l'espèce *Chlamydia* recherchée, au moins deux marqueurs sérologiques :

- ***Chlamydia trachomatis*** : IgG et IgA
- ***Chlamydia pneumoniae*** : IgG et/ou IgM et/ou IgA
- ***Chlamydia psittaci*** : IgG et IgM

- **Validité du test**

Les **contrôles positifs** présentent une coloration fluorescente vert-pomme moyenne à intense des corps élémentaires des différentes espèces de *Chlamydia*.

Le **contrôle négatif** présente une réactivité (coloration) négligeable pour chacune des espèces de *Chlamydia*.

Le test doit être considéré comme invalide si les contrôles ne présentent pas ces caractéristiques.

- **Interprétation**

Il est conseillé de lire d'abord les puits des témoins, afin d'assurer une interprétation correcte des résultats du test.

Lire la fluorescence des échantillons cliniques testés et classés de la manière suivante :

- + Coloration fluorescente vert pomme moyenne à intense, caractéristique des corps élémentaires.
- ± Fluorescence visible mais atténuée, considérée comme le titre final.
- Pas de fluorescence ou faible fluorescence de fond sans morphologie précise des *chlamydia*.

Espèce	IgG 1/128*	IgA 1/32	IgM 1/20	Interprétation
C. pneumoniae * 1/32 chez l'enfant	-	-	+	Infection primaire
	+	-	+	Infection primaire (plus fréquent chez l'enfant)
	+	+	-	Réinfection ou réactivation (plus fréquent chez l'adulte)
	+	-	-	Infection ancienne ou trace sérologique. Un titre IgG > 1/512 témoigne d'une infection primaire.
	-	-	-	Absence d'infection
	1/64	1/32	1/20	
C. trachomatis	-	-	+	Infection active et basse. Confirmer par la recherche directe de la bactérie.
	+	-	+	Infection active
	+	+	+/-	Infection active et haute
	-	+	+/-	Infection débutante (surtout si IgM +). Confirmer par la recherche directe de la bactérie
	+	-	-	Infection ancienne ou trace sérologique. Un titre IgG > 1/512 peut témoigner d'une infection active.
	1/64	1/32	1/20	
C. psittaci	-	-	+	Infection primaire
	+	-	+	Infection primaire
	+	+	-	Réinfection ou réactivation
	+	-	-	Infection ancienne ou trace sérologique. Un titre IgG > 1/64 témoigne d'une infection primaire.
	-	-	-	Absence d'infection

Remarques :

1. Il est possible d'observer une fluorescence nette et identique avec les trois espèces de *Chlamydia*. Il s'agit probablement d'une réaction croisée avec le LPS chlamydien.

Dans de rare cas, on peut également observer une fluorescence hétérogène dans de très petites particules (taille inférieure aux corps élémentaires de *Chlamydia*).

Le titrage à la dilution limite est recommandé pour déterminer l'espèce prédominante en cas d'infection multiple ou d'une réaction croisée entre les espèces. Une différence de titre d'au moins 4 dilutions d'une

espèce par rapport aux autres indique l'espèce prédominante probablement responsable de l'infection.

2. Les réactions croisées entre *C. psittaci* et les autres espèces *Chlamydia* sont rares. La présence d'IgA anti-*C.pneumoniae* est plus fréquente dans la population adulte et est probablement le signe d'une réinfection ou d'une réactivation.
3. La présence d'anticorps IgA anti-*C.trachomatis* peut témoigner d'une infection ancienne ou active. Il est conseillé de doser systématiquement les IgG afin de confirmer une infection passée, récente ou évolutive.

LIMITES DU TEST

1. Un test sérologique unique ne suffit pas pour établir un diagnostic final. Toutes les données cliniques et biologiques doivent être prises en compte.
2. Les échantillons prélevés à un stade trop précoce des primo-infections peuvent ne contenir aucun anticorps détectable. Si on soupçonne une infection à *Chlamydia*, un deuxième échantillon doit être prélevé 14 à 21 jours plus tard et testé parallèlement à l'échantillon d'origine.
3. La réactivité du sérum à plusieurs espèces de *Chlamydia* peut résulter de l'exposition à plusieurs espèces ou d'une réactivité croisée des anticorps.
4. L'optique du microscope et les caractéristiques de la source lumineuse peuvent influencer la détermination de l'intensité lumineuse globale et des titres finaux.

Pour assurer une interprétation correcte, les puits de contrôle doivent être lus les premiers.

PERFORMANCE DE LA METHODE

La technique SeroFIA IgATM *Chlamydia* a été comparée avec une méthode en Micro-immunofluorescence (MIF). L'étude a été menée dans un centre médical indépendant. La population étudiée comprenait des patients avec des infections suspectées à *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, et *C. trachomatis*.

Tableau 1 : *Chlamydia trachomatis* - SeroFIATM IgA *Chlamydia* VS MIF :

	MIF IgA positif	MIF IgA négatif	Total
SeroFIA TM IgA positif	11	6	17
SeroFIA TM IgA négatif	2	52	54
Total	13	58	71

Sensibilité : $\frac{11}{13} \times 100 = 84,6\%$

Spécificité : $\frac{52}{58} \times 100 = 89,7\%$

Recouvrement global : $\frac{63}{71} \times 100 = 88,7\%$

Tableau 2 : *Chlamydia pneumoniae* - SeroFIATM IgA *Chlamydia* VS MIF :

	MIF IgA positif	MIF IgA négatif	Total
SeroFIA TM IgA Positif	39	0	39
SeroFIA TM IgA négatif	0	74	74
Total	39	74	113

Sensibilité : $\frac{39}{39} \times 100 = 100\%$

Spécificité : $\frac{74}{74} \times 100 = 100\%$

Recouvrement global : $\frac{113}{113} \times 100 = 100\%$

Tableau 3 : *Chlamydia psittaci* - SeroFIATM IgA *Chlamydia* VS MIF :

	MIF IgA positif	MIF IgA négatif	Total
SeroFIA TM IgA Positif	1	4	5
SeroFIA TM IgA négatif	1	24	25
Total	2	28	30

Spécificité : $\frac{24}{28} \times 100 = 85,7\%$

Recouvrement global : $\frac{25}{30} \times 100 = 83,3\%$

Remarque : la sensibilité n'a pas été calculée à cause d'un trop faible nombre d'échantillons.

BIBLIOGRAPHIE

1. Sarov, I., B., Shemer, A.Y., Manor, E., Zvillich, M., Lunenfeld, E., Piura, B., Chaim, W. and Hagay, Z. (1989). Current Topics in Chlamydia trachomatis Research. In : Sero, 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. Weiss, E (1965). Adenosine Triphosphate and Other Requirements of the Utilization off Glucose by Agents of the Psittacosis-Trachoma Group. J.Bacteriol 90 : 243-353.
4. Brade, L., Nurminen, M., Makela, P.H. and Brade, H. (1985). Antigenic properties of Chlamydia trachomatis lipopolysaccharides. Infect Immuno. 48 :569-572.
5. Piura, B., Sarov, I., Sarov, B., Kleinman, D., Chim, W. and Insler, V. (1985). Serum IgG and IgA antibodies specific for Chlamydia trachomatis in salpingitis patients as determined by immunoperoxidase assay. Eur. J. Epidemiol. 1 :110-116.
6. 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.
7. Kaneti, J., et al (1988). IgG and IgA Antibodies Specific for *Chlamydia trachomatis* in Acute Epididymitis. Europ. Urol. 14 :323-327.
8. Kletter, Y., Caspi, D., Yarom, M., Sarov, B., Sarov, I., and Tanay, A. Serum IgA and IgG Antibodies Specific to Chlamydia in Patients with Rieter's Syndrome (RS). In : Proceedings of The European Society for Chlamydia Research, Societa Editrice Esculapio, Bologna. 1988. P. 170.
9. Stutman, H.R., Rettig, P.J. and Reyes, S. (1984). *Chlamydia trachomatis* as a cause of Pneumonitis and Pleural Effusion. J. Pediat. 104 : 588-591.
10. Paran, H., Heimer, D. and Sarov, I. (1986). Serological, Clinical and Radiological Findings in Adults with Bronchopulmonary Infections Caused by Chlamydia trachomatis. Isr. J. Med. Sci. 22 :823-827.
11. Grayston, J.T., Wang, S.P., Kuo, C.C. and Campbell, L.A. (1989). Current knowledge on Chlamydia pneumoniae strain TWAR, an important cause of pneumonia and other acute respiratory diseases. Eur. J. Clin. Microbiol. Dis. 8 :191-202.
12. Kuo, C.C., Shor, A., Campbell, I.A., Fukushi, H., Patton, D.L., and Grayston, J.T. (1993). Demonstration of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries. J. Inf. Dis. 167 :841-849.
13. Campbell, L.A., Kuo, C.C., Wang, S.P. and Grayton, J.T. (1990). Serological response to Chlamydia pneumoniae infection. J. Clin. Micro. 28 :1261-1264.
14. Schachter, J. (1978). Chlamydia infections. Parts 1-3. N. Eng. J. Med. 298 :428-435 ; 490-495 ; 540-549.
15. Schachter, J., and Caldwell, H.D. (1980). Chlamydiae. Ann. Rev. Microbiol. 34 : 285-309.
16. Chernesky, M.A., Jank, D., Lee, H., Burczak, J.D., Hu, H., Sellor, J., Tomazic-Allen, S.J. and Mahony, J.B. (1994). Diagnosis of Chlamydia trachomatis infections in men and women by testing first void urine by ligase chain reaction. J. clin. Micro. 32 :2682-2685.
17. Bedson, S.P. (1935). The use of complement fixation in the diagnosis of human psittacosis. Lancet II : 1277-1280.
18. Wang, S.P., Grayston, J.T., Kuo, C.C., Alexander, E.R., and Holmes, K.K. (1977). SeroDiagnosis of Chlamydia trachomatis infection with the MIF test. In : Nongonococcal urethritis and related infection. D. Hobson and K.K. Holmes (Eds), P. American Society for Microbiology, Washington DC, P. 237-248.
19. Richmond, S.J. and Caul, E.O. (1977). Single antigen indirect immunofluorescent test for screening venereal disease clinic populations for chlamydia antibodies In : Nongonococcal urethritis and related infections. D. Hobson and K.K. Holmes (Eds), American Society for Microbiology, Washington DC, p. 259-265.
20. Ossewaarde, J.M., Manten, J.W., Hooft, H.J., and Hekker, A.C. (1989). An enzyme immunoassay to detect specific antibodies to protein and lipopolysaccharide antigen to Chlamydia trachomatis. J. Immunol. Methods. 123 :293-298.
21. 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.
22. Puolakkainen, M., Saikku, P., Leinonen, M., Nurminen, M., Vaananen, P. and Makela, P.H. (1984). Chlamydia pneumoniae and its serodiagnosis in infants. J. Infect. Dis. 149 : 598-604.
23. La Scolea, L. (1991). The value of non-culture Chlamydia Diagnosis Tests. Clin. Micro. News. Letter 13 : 21-24.
24. Barnes, R.C. (1989). Laboratory Diagnosis of Human Chlamydia Infections. Clin. Micro. Rev. 2 : 119-136.
25. Wang, S.P. and Grayston, J.T. (1970). Immunologic relationship between genital tract, Lymphogranuloma venereum, and related organisms in a new microtiter indirect immunofluorescence test. Am. J. Ophthalmol ; 70 : 367-364.
26. Grayston, J.T., L.A. Campbell, C.H. Mordhrst, P. Saikku, D. Thom and S.P. Wang. (1989). A new Respiratory Pathogen : Chlamydia pneumoniae strain TWAR. J. Inf. Dis. 161 : 618-25.
27. Saikku, P.M., Leinonen, L., Tenkanen, E., Linnanmaki, M-R Ekman, V. Manninen, M. Manttari, M.H. Frick, J.K. Hottunen. (1992). Coronary Heart Disease in the Helsinki Heart study. Ann. Of Int. Med. 116 : 273-278.
28. Schachter, J. Chlamydiae, (1992). Rose, N.R., E.C. de Macario, J.L. Fahey, H. Friedman, G.M. Penn (ed), Manual of Clinical Immunology, 4th ed., Asm Press, Washington DC P. 661-666.
29. Saikku, P., K. Mattila, M.S. Nieminan, J.K. Huttunen, M. Leinonen, M-R. Ekman, P.H. Makela and V. Valtonen (1988). Serological Evidence of an association of a Novel Chlamydia Twar with Chronic Coronary Heart Disease and Acute Myocardial Infarction. Lancet 2 : 983-6.
30. Leinonen, M., H. Sryjala, P. Kujala and P.Saikku (1991). Serological diagnosis of Chlamydia pneumoniae (Cpn) in adults. In : Abstracts of 31st ICAAC, Chicago, Illinois, Sept 29-Oct 2, 1991. Washington DC, Aner. Soc. Microbiol., p. 209.

RESUME DES ETAPES DU MODE OPERATOIRE
SeroFIA™ Chlamydia IgA



Theradiag Theradiag

14 Rue ambroise Croizat

77183 Crossy 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



0483

European Authorized Representative: Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: +(32) 2. 732.59.54

Fax: +(32) 2.732.60.03

E-Mail : mail@obelis.net

1. **Diluer les sérums échantillon comme indiqué :**
 - **C. trachomatis - 1 :32** (10 µl sérum + 310 µl de diluant sérum)
 - **C. psittachi - 1 :32** (10 µl sérum + 310 µl de diluant sérum)
 - **C. pneumoniae - 1 :32** (10 µl sérum + 310 µl de diluant sérum)(enfant).
2. Diluer le tampon de lavage concentré au 1 :20 (50 ml de tampon + 950 ml d'eau distillée).
3. **Déposer 10 µl de sérum dilué ou de contrôle dans chacun des puits de la lame.**
4. **Incuber en chambre humide à 37°C pendant 30 minutes.**
5. Rincer doucement les puits avec une pissette de tampon de lavage. Immerger les lames dans un bac contenant une solution de tampon de lavage pendant 10 minutes.
6. Plonger les lames lavées dans de l'eau distillée. Sécher à l'air.
7. **Déposer 10 µl de conjugué-FITC IgA dans chaque puits.**
8. **Incuber à 37°C pendant 30 minutes.**
9. Laver et rincer les lames (étapes 5 et 6).
10. Déposer 3 gouttes de milieu de montage et couvrir la lame avec une lamelle.
11. Lecture au microscope à fluorescence.