

Chlamydien-IgM-rELISA medac

Français



FABRICANT

medac

Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Fehlandtstraße 3
D-20354 Hamburg

DISTRIBUTION

medac

Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Geschäftseinheit Diagnostika
Theaterstraße 6
D-22880 Wedel

Tél.: ++49/ 4103 / 8006 - 348
Télécopie : ++49/ 4103 / 8006 - 359

ADRESSE DE COMMANDE

Tél.: ++49/ 4103 / 8006 - 111
Télécopie : ++49/ 4103 / 8006 - 113

Chlamydien-IgM-rELISA medac

Immunoessai enzymatique recombinant pour la détection des anticorps spécifiques IgM anti-LPS du genre chlamydia dans le sérum humain

Réf.: 485-TMB

DESTINEE UNIQUEMENT AU DIAGNOSTIC IN VITRO

INTRODUCTION

Les chlamydiae sont des bactéries pathogènes gram négatives. Elles ont un cycle vital intracellulaire obligatoire dans les couches superficielles des muqueuses, dans les cellules endothéliales, dans les cellules du muscle lisse et selon découvertes récentes dans certaines structures tissulaires du système nerveux central. Les chlamydiae dépendent des phosphates riches en énergie de leurs cellules hôtes et sont par conséquent appelés des parasites énergétiques.

Le genre chlamydia comprend quatre espèces: *C. pneumoniae*, *C. trachomatis*, *C. psittaci* et *C. pecorum*. *C. pneumoniae* et *C. trachomatis* sont des pathogènes de l'homme uniquement. *C. psittaci* est pathogène pour l'homme et de nombreuses espèces animales. Jusqu'à présent, *C. pecorum* a été isolé uniquement chez les animaux.

Chlamydia trachomatis est l'un des agents les plus fréquents, dans le monde, causant des infections sexuellement transmissibles du tract urogénital et de l'œil. Dans la plupart des cas, les infections à *C. trachomatis* sont asymptomatiques. Ceci entraîne plusieurs maladies chroniques entretenues par les agents ascendants et persistants. Les tableaux cliniques incluent chez la femme: Endométrite, adnexite, périappendicite, périhépatite et arthrite réactive. La conséquence des adnexites répétées est une occlusion tubaire avec pour résultat une stérilité.

Chez l'homme les pathogènes peuvent envahir l'épididyme (→ épididymite) et la glande prostate (→ prostatite) après une urétrite traitée de manière incomplète ou sans succès. Dans ce cadre aussi, une réduction de la fertilité a été discutée. De plus, de l'arthrite réactive post urétrite a été décrite. Chez le nouveau-né *C. trachomatis* peut infecter l'enfant pendant l'accouchement et peut causer une conjonctivite néonatale et/ou une pneumonie.

Chlamydia pneumoniae surviennent dans le monde entier. En plus de maladies de type grippal, le tableau clinique inclut la sinusite, la pharyngite, la bronchite, la maladie chronique obstructive pulmonaire, la pneumonie atypique et l'arthrite réactive. Une implication causale des infections dans l'asthme, la sarcoïdose, l'athérosclérose, infarctus aigu du myocarde, l'attaque d'apoplexie, la sclérose multiple et l'apparition tardive de la maladie d'Alzheimer ont été décrits.

Chlamydia psittaci infecte les oiseaux et les mammifères qui peuvent transmettre le pathogène à l'homme. Les pneumonies sévères qui en résultent peuvent mener à des conditions dangereuses pour la survie si une intervention rapide par antibiotiques n'est pas commencée.

Le diagnostic des infections à chlamydiae réside dans la détermination des antigènes et des anticorps. La détection antigénique (IFA, ELISA, PCR) est importante pour le diagnostic des infections périphériques. Dans les cours ascendants de la maladie, la détection du pathogène est limitée et doit être complétée par la sérologie. Les méthodes sérologiques incluent le test de fixation de complément, IFA, MIF, ELISA spécifiques de genre et d'espèce.

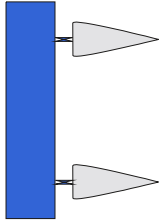
Les chlamydiae contiennent comme antigène commun immunodominant le lipopolysaccharide (LPS), contre lequel est dirigée la première réaction immunitaire. Les anticorps correspondants sont déjà détectables quelques jours après l'infection et, de ce fait, permet un diagnostic précoce. L'utilisation de paires de sera permet la discrimination des infections courantes, des réinfections, des réactivations (augmentation définie de titre) et des infections chroniques persistantes (titres constants d'anticorps). A cause de la persistance limitée des anticorps anti-LPS après éradication réussie du pathogène, le diagnostic des infections courantes n'est, de manière évidente, pas influencée par des infections anciennes.

Les Chlamydien-IgG-, IgA- et IgM-rELISA medac sont basés sur un antigène de structure moléculaire définie, produit par technologie génétique. Il s'agit d'un fragment LPS spécifique du genre chlamydia qui n'a été trouvé dans aucun autre LPS bactérien.

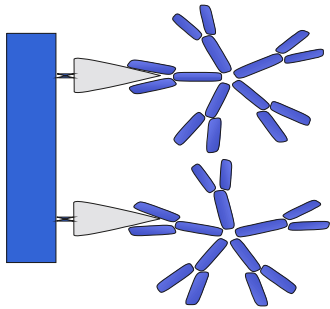
La comparaison de sera de patients avec des infections génitales ou respiratoires à chlamydia, avec ceux de donneurs de sang, montre que la présence d'anticorps anti-chlamydia LPS est détectée plus fréquemment chez les patients que chez les donneurs de sang.

La réaction étant spécifique de genre, le résultat ne va pas différencier les espèces de chlamydia; cependant, les symptômes cliniques vont déjà orienter à l'espèce de chlamydia suspectée et de plus tous les chlamydiae montrent une sensibilité équivalente aux antibiotiques; la détection de genre n'aura pas de conséquences.

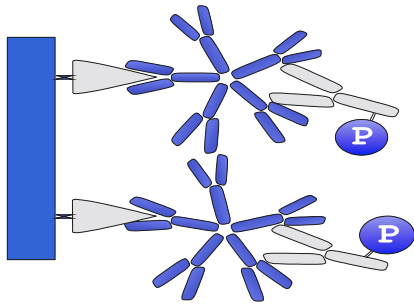
PRINCIPE DU DOSAGE



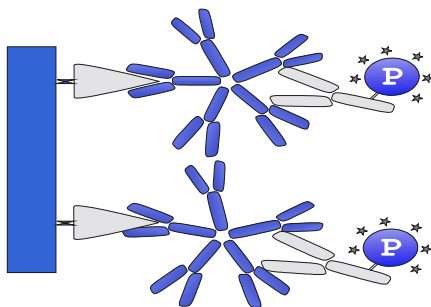
La plaque est revêtue du fragment recombinant de LPS, spécifiques du genre chlamydia.



Les anticorps spécifiques anti-chlamydia-LPS présents dans l'échantillon, vont se lier à l'antigène.



Les anticorps anti-IgM humaines conjuguées à la peroxidase vont se lier aux anticorps IgM (P = peroxidase).



Incubation avec TMB-substrat(*). La réaction est arrêtée par l'ajout d'acide sulfurique. L'absorption est lue par un spectrophotomètre.

Avantages du dosage

- ☞ Structure chimiquement définie de l'antigène spécifique du genre chlamydia.
- ☞ Micropuits sécables permettant l'utilisation optimale du kit.
- ☞ Convenient pour l'automatisation sur des appareils ELISA ouverts.

CONTENU DE LA TROUSSE

Réf. : 485-TMB

1.

MTP

Microplaque: 12 x 8 puits en U (avec support et dessicatif, dans un sachet d'aluminium sous vide), sécables, revêtus du fragment recombinant de LPS, spécifique du genre chlamydia, et de serum de veau nouveau-né, prêts à l'emploi.
2.

CONTROL	-
----------------	----------

Contrôle négatif: 1 flacon de 1,5 ml, contenant du sérum humain, prêt à l'emploi, couleur bleue, contient du sérum de veau nouveau-né, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulphate de gentamicine.
3.

CONTROL	+
----------------	----------

Contrôle positif: 1 flacon de 1,5 ml, contenant du sérum humain, prêt à l'emploi, couleur bleue. Contient de la SAB, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulphate de gentamicine.
4.

WB

Tampon de lavage: 1 flacon de 100 ml contenant un tampon PBS/Tween (10x), pH 7,2 - 7,4, contient du ProClin™ 300.
5.

BAC-DIL

Diluant pour échantillons: 1 flacon de 110 ml contenant une solution tamponnée PBS/Tween/sérum de veau nouveau-né, pH 7,0 - 7,2, prête à l'emploi, couleur bleue, contient du ProClin™ 300.
6.

CON

Conjugué: 4 flacons de 4,5 ml chacun, contenant une solution d'immunoglobulines de chèvre anti-IgM humaines conjuguées à de la peroxydase du raifort (HRP), prête à l'emploi, couleur rouge, contient de la SAB, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulphate de gentamicine.
7.

TMB

TMB-substrat: 1 flacon de 10 ml de solution, prête à l'emploi.
8.

STOP

Solution d'arrêt: 2 flacons de 11 ml chacun, contenant de l'acide sulfurique (H₂SO₄) 0,5 M, prête à l'emploi.
9.

RF-ABS

Absorbant IgG/FR: 1 flacon de 4 ml, contenant des anticorps de chèvre anti-IgG humaines, prêt à l'emploi, contient moins de 0,1 % d'azide de sodium.

1. CONSERVATION ET STABILITÉ

Matériel/Réactifs	Etat	Conservation	Stabilité
Trousse	non ouvert	2...8 °C	jusqu'à date de péremption
Microplaque	ouvert	2...8 °C dans le sachet avec dessicatif.	6 semaines
Contrôles	ouvert	2...8 °C	6 semaines
Tampon de lavage	dilué	2...8 °C	6 semaines
Diluant pour échantillons	ouvert	2...8 °C	6 semaines
Conjugué	ouvert	2...8 °C	6 semaines
TMB-substrat	ouvert	2...8 °C	6 semaines
Solution d'arrêt	ouvert	2...8 °C	jusqu'à date de péremption
Absorbant IgG/FR	ouvert	2...8 °C	6 semaines

Ne pas utiliser les réactifs après leur date de péremption.

2. RÉACTIFS ET MATÉRIEL NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- 2.1. Eau pour injection ou bidistillée. L'utilisation d'eau désionisée n'est pas conseillée.
- 2.2. Micropipettes réglables.
- 2.3. Récipients propres en plastique ou en verre pour la dilution du tampon de lavage et des sérums de patients.
- 2.4. Dispositif de lavage des microplaques (par exemple multistepper ou ELISA washer).
- 2.5. Incubateur à 37 °C.
- 2.6. Lecteur de plaque avec filtres de 450 nm et 620 - 650 nm.

3. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Avant de démarrer la procédure de dosage, tous les composants de la trousse doivent être amenés à température ambiante.

Calculer le nombre de puits nécessaires.

3.1. Microplaque

Le sachet d'aluminium avec le dessicatif doit être soigneusement rescellé, après avoir retiré les puits. La conservation et la durée de vie des puits sont indiqués au point 1.

3.2. Tampon de lavage

Mélanger un volume de tampon de lavage (10x) avec 9 volumes d'eau pour injection ou bidistillée (p.ex. 50 ml de tampon de lavage (10x) avec 450 ml d'eau). 10 ml de tampon dilué sont nécessaires pour 8 puits.

Des cristaux peuvent se former dans la solution concentrée de lavage (10x). Dissoudre ces cristaux en chauffant (maximum 37 °C) et/ou en tournant, à température ambiante.

Ne pas mélanger les réactifs spécifiques du test (microplaque, contrôles, conjugué) de différents lots. Par contre, le diluant pour échantillons, le tampon de lavage, le substrat-TMB, l'absorbant IgG/RF et la solution d'arrêt sont interchangeables dans tous les Chlamydiae- et Mycoplasmes-ELISA medac.

Des réactifs d'autres fabricants ne peuvent pas être utilisés.

Des résultats valides et reproductibles sont obtenus uniquement en suivant strictement la notice d'emploi.

4. ECHANTILLONS

4.1. Le test est à utiliser avec des échantillons sériques, mais pas avec des échantillons de plasma.

4.2. Le traitement préalable du sérum, p.ex. inactivation, n'est pas nécessaire. Toutefois, il ne doit être contaminé par des micro-organismes ni contenir des érythrocytes.

4.3. Les échantillons sériques doivent être à une dilution finale de 1/50 après l'absorption des IgG/FR (voir 5.A.).

5. PROCEDURE DU DOSAGE

5.A. ABSORPTION DES IgG/FR

Attention:

- * Les contrôles sont prêts à l'emploi (il n'est pas nécessaire d'effectuer une absorption).**
- * Les volumes suivants indiqués s'appliquent uniquement à des déterminations simples.**

- 5.A.1. Sérum: Diluer 10 µl de sérum avec 240 µl de diluant pour échantillons (dilution 1:25).
- 5.A.2. Absorption: Mélanger 30 µl de solution absorbante IgG/FR et 30 µl de sérum dilué (dilution 1:50) et incubé pendant 15 min à température ambiante.

Alternative: L'absorption peut être réalisée pendant de toute la nuit à 2 - 8 °C.

- 5.A.3. La dilution finale est 1:50.

5.B. REALISATION DU DOSAGE

- 5.B.1. Couper le sachet d'aluminium au-dessus du zip et extraire le nombre des puits nécessaires (voir 3.1.).

Les puits sont prêts à l'emploi et ne doivent pas être pré-lavés.

- 5.B.2. Distribuer 50 µl de diluant pour échantillons dans le puits blanc A1 (voir 6.A.) et 50 µl de contrôle négatif (en doublets), de contrôle positif et d'échantillon de patient dilué dans les puits respectifs.

Remarque: La plaque peut, à ce stade de la technique, être conservée dans une chambre humide 30 min à une température de 2 - 8 °C.

- 5.B.3. Incuber la microplaque pendant 60 min (± 5 min) à 37 °C (± 1 °C) en chambre humide ou recouverte avec un couvercle d'incubation.

- 5.B.4. Après incubation, laver les puits trois fois avec 200 µl de Tampon de lavage par puits. Vérifier que tous les puits sont bien remplis. Après lavage, tapoter délicatement les puits sur du papier absorbant.

Ne pas laisser sécher les puits! Poursuivre immédiatement la procédure!

- 5.B.5. Ajouter le conjugué (couleur rouge) dans chaque puits.

Distribuer 50 µl de conjugué dans les puits si la procédure est réalisée manuellement.

Attention:

Si la procédure est réalisée sur automate, il faut distribuer 60 µl de conjugué dans chaque puits, en raison de l'évaporation élevée des chambres d'incubation des automates.

L'aptitude principale d'automatiser le test pourrait être montrée pendant la validation. Néanmoins, nous recommandons de vérifier la compatibilité avec l'automate employé.

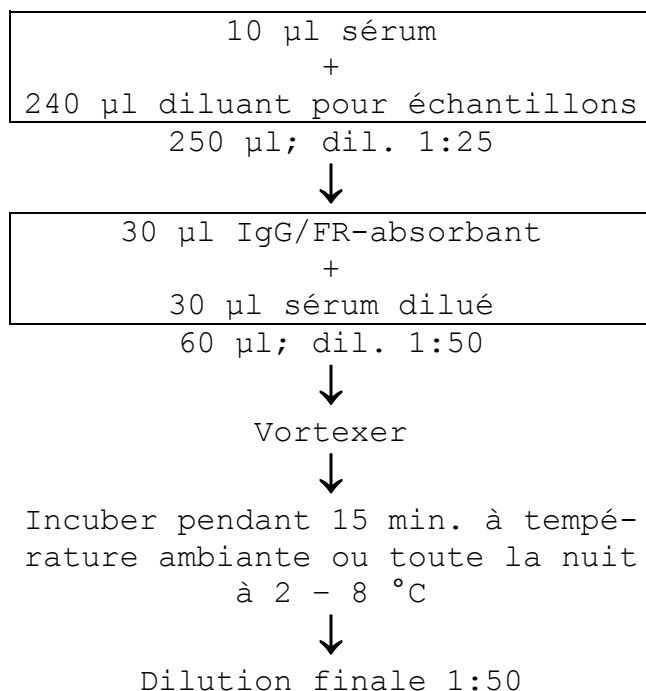
- 5.B.6. Incuber à nouveau la microplaque pendant 60 min (± 5 min) à 37 °C (± 1 °C) en chambre humide ou recouverte avec un couvercle d'incubation.
- 5.B.7. Après incubation, laver les puits de nouveau (voir 5.B.4.).
- 5.B.8. Ajouter 50 µl de TMB-substrat dans chaque puits et incuber la microplaque, pendant 30 min (± 2 min) à 37 °C (± 1 °C) en chambre humide ou recouverte avec un couvercle d'incubation, dans l'obscurité. Les échantillons positifs deviennent bleus.
- 5.B.9. Arrêter la réaction en ajoutant 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits. Les échantillons positifs deviennent jaunes.

Bien nettoyer le dessous des puits avant la lecture photométrique et vérifier l'absence de bulles d'air dans les puits.

La lecture doit être effectuée dans les 15 minutes après l'ajout de la solution d'arrêt.

5.C. TABLEAU POUR L'ABSORPTION D'IgG/FR

Indication par détermination



5.D. TABLEAU DE DISTRIBUTION DES RÉACTIFS

	Blanc (A1)	Contrôle négatif	Contrôle positif	Echantillon
Diluant pour échantillons	50 µl	-	-	-
Contrôle négatif	-	50 µl	-	-
Contrôle positif	-	-	50 µl	-
Echantillon	-	-	-	50 µl
Incuber pendant 60 min à 37 °C, laver 3 x avec 200 µl de tampon de lavage				
Conjugué	50/60 µl*)	50/60 µl)	50/60 µl*)	50/60 µl*)
Incuber pendant 60 min à 37 °C, laver 3 x avec 200 µl de tampon de lavage				
TMB-substrat	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Incuber pendant 30 min à 37 °C dans l'obscurité				
Solution d'arrêt	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Lecture photométrique à 450 nm (référence: 620 - 650 nm)				

*: procédure manuelle/automatique (voir 5.B.5.).

6.A. CALCUL DES RESULTATS (VALIDITE)

- * Lire les valeurs d'absorbance (D.O.) à 450 nm (longueur d'onde de référence 620 - 650 nm).
- * Soustraire la valeur D.O. du puits blanc (puits A1) de toutes les autres valeurs de D.O.
- * La valeur D.O. du puits blanc doit être inférieure à **0,100**.
- * La valeur moyenne D.O. du **contrôle négatif** doit être inférieure à **0,200**.
- * La valeur D.O. du **contrôle positif** doit être supérieure à **0,800**.
- * **Valeur seuil (cut-off) = valeur moyenne D.O. du contrôle négatif + 0,370**
- * **Zone grise = valeur seuil \pm 15 %**

Refaire la série si les résultats ne rencontrent pas les spécifications.

6.B. EVALUATION DES RÉSULTATS

6.B.1. QUALITATIVE

Résultat	Interprétation
OD < zone grise	négative
cut off \pm 15 %	douteux
OD > zone grise	positive

6.B.2. QUANTITATIVE

Avec le Chlamydien-IgM-rELISA medac les séra doivent être titrés si une détermination du titre final est désirée.

6.C. INTERPRETATION DES RESULTATS

6.C.1. CRITERES POUR DES AUGMENTATIONS SIGNIFICATIVES DE TITRES

Pour le diagnostic d'infections courantes, récentes, réactivations (augmentations significatives de titre) et la différenciation des infections persistantes (titres constants d'anticorps) nous recommandons principalement l'utilisation de paires de séra. Elles doivent être obtenues avec un interval de 10 - 14 jours.

Les critères suivants ont été décrits comme une possibilité pour l'estimation des augmentations de titres significatives (Persson et al., Verkooyen et al.):

Augmentation d'un factor trois ou plus dans les
titres d'anticorps spécifiques IgG **ou** IgA
ou
augmentation d'un factor deux ou plus dans les
titres d'anticorps spécifiques IgG **et** IgA
ou
augmentation d'un factor deux ou plus dans les
titres d'anticorps spécifiques IgM

6.C.2. INTERPRETATION SPECIFIQUE IgM

Résultats Possibles	Interprétation
+	1. Indication d'infection aiguë.
+/-	2. Des IgM en zone grise. Possibilité d'un stade très précoce d'infection aiguë. Doser de nouveau les IgM après 10 - 14 jours et doser les IgG et IgA.
-	3. Négatif vis à vis des IgM anti-chlamydia. Dans le cas de suspicion clinique justifiée, doser les IgA et IgG.

- * Chaque valeur IgM devrait être interprétée en relation avec IgG et/ou IgA, le tableau clinique et d'autres paramètres de diagnostic.
- * Des échantillons qui ont des valeurs D.O. dans la zone grise doivent être dosés de nouveau avec des échantillons frais prélevés 14 jours après, afin de pouvoir déterminer un changement dans le titre d'anticorps.
- * Des concentrations élevées d'hémoglobine et de bilirubine dans le serum n'ont pas d'influence sur les résultats.
- * Dans des cas rares, des hautes concentrations en lipides dans le sérum peuvent influencer les résultats du test.
- * Dans certain cas, des réactions croisées avec des anticorps anti-parvovirus B19 ne peuvent pas être exclues.

Commentaire :

Dans le cas d'infections à chlamydia aiguës récentes, le résultat des anticorps sérologiques peut être négatif, malgré le tableau clinique et une détection positive d'antigènes. Si l'on souhaite une confirmation sérologique du résultat d'antigène positif ou un suivi, il est conseillé de refaire le test après 10 - 14 jours pour déterminer l'existence d'une séroconversion.

7. PERFORMANCE DU DOSAGE

Les caractéristiques des performances ont été déterminées pendant l'évaluation diagnostique.

7.A. PREVALENCE

Des sera des différents cohortes de patients (cultures positives, négatives de patients avec MST, prostituées, femmes infertiles, hommes infertiles, patients avec maladies chroniques obstructives pulmonaires [COPD]) et des contrôles (femmes enceintes, 2 cohortes de donneurs de sang) ont été investiguées pour la **détermination de la prévalence des anticorps LPS.**

Cohortes	Prevalence		
	IgG	IgA	IgM
Patients MST cultures positives (études internes medac)	67 % (88/132)	56 % (74/132)	14 % (18/132)
Patients MST cultures négatives (études internes medac)	33 % (41/125)	13 % (16/125)	2 % (3/125)
Prostituées (Schmitz et al.)	86 % (255/295)	48 % (141/295)	21 % (63/295)
Femmes infertiles (Schmitz et al.)	75 % (62/83)	45 % (37/83)	10 % (8/83)
Hommes infertiles (Schmitz et al.)	71 % (144/203)	35 % (71/203)	9 % (18/203)
Patients avec maladies rhumatoïdes (études internes medac)	83 % (158/191)	63 % (120/191)	7 % (13/191)
Patients COPD (Verkooyen et al. 1997)	53 % (144/271)	32 % (88/271)	3 % (9/271)
Femmes enceintes (medac-internal investigations)	32 % (62/192)	17 % (32/192)	8 % (16/192)
Donneurs de sang groupe 1 (Verkooyen et al. 1998)	29 % (325/1104)	n.d*	n.d*
Donneurs de sang groupe 2 (études internes medac)	37 % (154/416)	13 % (54/416)	3 % (6/240)

*: n.d = non déterminé

7.B. PRECISION

Echan- tillon	Variation Intra-essai				Echan- tillon	Variation Inter-essais (n = 11)		
	D.O. moyenne	E.T.	CV (%)	n		D.O. moyenne	E.T.	CV (%)
NC	0,046	0,003	6	24	NC	0,041	0,003	7
BC	0,639	0,017	3	24	BC	0,601	0,026	4
PC	1,534	0,040	3	24	PC	1,439	0,059	4
N° 1	0,446	0,018	4	24	N° 3	0,421	0,030	7
N° 2	0,986	0,030	3	24	N° 4	1,005	0,055	5

NC = contrôle négatif; BC = contrôle positif bas (non inclus dans la trousse); PC = contrôle positif

INDICATIONS GÉNÉRALES

- * Ne pas échanger les flacons et leurs bouchons pour éviter les contaminations croisées.
- * Les flacons des réactifs doivent être refermés immédiatement après leur utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- * Après emploi, les réactifs doivent être conservés comme indiqué pour garantir leur durée de vie.
- * Après leur utilisation, conserver tous les composants de la trousse dans leur emballage d'origine, afin d'éviter le mélange des réactifs concernant d'autres techniques de dosage ou d'autres lots (voir aussi 3.).

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

- * Il faut appliquer la réglementation en vigueur en matière de sécurité et de santé.
- * Les réactifs d'origine humaine ont été dosés et trouvés négatifs en AgHBs, en anticorps anti-HIV 1/2 et anti-VHC. Néanmoins, il est fortement conseillé de manipuler ces produits, ainsi que ceux d'origine animale (voir contenu de la trousse), comme étant potentiellement infectieux et de les utiliser avec les précautions nécessaires.

CONSEIL D'ELIMINATION

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchet doit se faire selon la réglementation en vigueur. Il faut consulter les organismes agréés pour connaître le moyen de se débarrasser des déchets.

Date de mise à jour: 01.07.2008

LITTERATURE

Balin, B.J., Gérard, H.C., Arking, E.J., Appelt, D.M., Branigan, P.J., Abrams, J.T., Whittum-Hudson, J.A., Hudson, A.P.: Identification and localization of ***Chlamydia pneumoniae*** in the Alzheimer's brain. Med. Microbiol. Immunol. 187, 23-42 (1998).

Brade, L., Holst, O., Kosma, P., Zhang, Y.X., Paulsen, H., Krausse, R., Brade, H.: Characterization of murine monoclonal and murine, rabbit, and human polyclonal antibodies against chlamydial lipopolysaccharide. Infect. Immun. 58, 205-213 (1990).

Brade, L., Brunnemann, H., Ernst, M., Fu, Y., Kosma, P., Näher, H., Persson, K., Brade, H.: Occurrence of antibodies against chlamydial lipopolysaccharide in human sera as measured by ELISA using an artificial glycoconjugate antigen. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 8, 27-42 (1994).

Diedrichs, H., Schneider, C.A., Scharkus, S., Pfister, H., Erdmann, E.: Prävalenz von Chlamydien-Antikörpern bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung. Herz/Kreisl. 29, 304-307 (1997).

Elkind, M.S., Lin, I.F., Grayston, J.T., Sacco, R.L.: ***Chlamydia pneumoniae*** and the risk of first ischemic stroke. The Northern Manhattan stroke study. Stroke 31, 1521-1525 (2000).

Falck, G., Gnarp, J., Gnarp, H.: Persistent ***Chlamydia pneumoniae*** infections in a Swedish family. Scand. J. Infect. Dis. 28, 271-273 (1996).

Gérard, H.C., Schumacher R.H., El-Gabalawi, H., Goldbach-Mansky, R., Hudson, A.P.: ***Chlamydia pneumoniae*** present in the human synovium are viable and metabolically active. Microbiol. Pathol. 29, 17-24 (2000).

Grayston, J.T., Wang, S.P., Kuo, C.C., Campbell L.A.: Current knowledge of ***Chlamydia pneumoniae***, strain **TWAR**, an important cause of pneumonia and other respiratory diseases. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8, 191-202 (1989).

Gupta, S., Leatham, E.W., Carrington, D., Mendall, M.A., Kaski, J.C., Camm, A.J.: Elevated ***Chlamydia pneumoniae*** antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. Circulation 96, 404-407 (1997).

Hahn, D.L., Peeling, R.W., Dillon, E., McDonald, R., Saikku, P.: Serologic markers for ***C. pneumoniae*** in asthma. Ann. Allergy Asthma Immunol. 84, 227-233 (2000).

Köhler, M., Jendro, C.: Bedeutung der Persistenz von **Chlamydia trachomatis** im Gelenk für die Pathogenese der Chlamydien-induzierten Arthritis unter Berücksichtigung der therapeutischen Implikationen. Akt. Rheumatol. 22, 170-175 (1997).

Land, J.A., Evers, J.L., Goossens, J.V.: How to use Chlamydia antibody testing in subfertility patients. Hum. Reprod. 13, 1094-1098 (1998).

Maass, M., Bartels, C., Engel, P., Mamat, U., Sievers, H.H.: Endovascular presence of viable **Chlamydia pneumoniae** is a common phenomenon in coronary artery disease. JACC 31, 827-32 (1997).

Morré, S.A., De Groot, C.J., Killestein, J., Meijer, C.J., Polman, C.H., Van der Falk, P., Van den Brule, A.J.: Is **Chlamydia pneumoniae** present in the central nervous system of multiple sclerosis patients? Ann. Neurol. 48, 399 (2000).

Paavonen, J.: **Chlamydia trachomatis**: A major cause of mucopurulent cervicitis and pelvic inflammatory disease in women. In: Sexually Transmitted Diseases. Advances in Diagnosis and Treatment. Curr. Probl. Dermatol. Elsner, P., Eichmann, A. (eds.). Basel, Karger, 24, 110-122 (1996).

Patton, D., Askienazy-Elbhar, M., Henry-Suchet, J., Campbell, L.A., Cappuccio, A., Tannous, W., Wang, S.P., Kuo, C.C.: Detection of **Chlamydia trachomatis** in fallopian tube tissue in women with post-infectious tubal infertility. Am. J. Obstet. Gynecol. 171, 95-101 (1994).

Persson, K., Haidl, S.: Evaluation of a commercial test for antibodies to the chlamydial lipopolysaccharide (Medac) for serodiagnosis of acute infections by **Chlamydia pneumoniae (TWAR)** and **Chlamydia psittaci**. APMIS 108, 131-138 (2000).

Petersen, E.E., Clad, A.: Genitale Chlamydieninfektionen. Deutsches Ärzteblatt 92, A-277-282 (1995).

Saikku, P.: Diagnosis of acute and chronic **Chlamydia pneumoniae** infections. In: Orfila, J. et al. (eds): Chlamydial Infections. Proc. Eighth Int. Symp. on Human Chlamydial Infect. Società Editrice Esculapio, Bologna, Italy, p. 163-170 (1994).

Schachter, J.: The intracellular life of Chlamydia. Curr. Top. Microbiol. Immun. 138, 109-39 (1988).

Schmitz, F.J., Küppers, B., Reinartz, R., Vossel, R., Schuppe, D., Bielfeld, D., Heinz, H.P.: Prevalence of ***Chlamydia trachomatis*** antigen and Chlamydia antibodies in prostitutes, infertile female and infertile male patients - Comparison of different methods. In: Stary, A. (ed.): Proc. Europ. Soc. Chlamydia Res., Società Editrice Esculapio, Bologna, Italy, p. 339 (1996).

Sriram, S., Stratton, C.W., Yao S.: ***Chlamydia pneumoniae*** infections in the central nervous system in multiple sclerosis. Ann. Neurol. 46, 6-14 (1999).

Verkooyen, R.P., van Lent, N.A., Mousavi Joulandan, S.A., Snijder, R.J., van den Bosch, J.M., van Helden, H.P., Verbrugh, H.A.: Diagnosis of ***Chlamydia pneumoniae*** infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease by micro-immunofluorescence and ELISA. J. Med. Microbiol. 46, 959-964 (1997).

Verkooyen, R.P., Willemse, D., Hiep-van Casteren S.C.A.M., Mousavi Joulandan, S.A., Snijder, R.J., van den Bosch, J.M.M., van Helden, H.P.T., Peeters, M.F., Verbrugh, H.A.: Evaluation of PCR, culture, and serology for diagnosis of ***Chlamydia pneumoniae*** respiratory infections. J. Clin. Microbiol., 36, 2301-2307 (1998).

Ward, M.E.: The immunobiology and immunopathology of chlamydial infections. APMIS 103, 769-796 (1995).

Weström, L.V.: Chlamydia and its effect on reproduction. J. Brit. Fertil. Soc. 1, 23-30 (1996).

Wollenhaupt, J., Zeidler, H.: Klinik, Diagnostik und Therapie der Chlamydien-induzierten Arthritis. Akt. Rheumatol. 22, 176-182 (1997).