Chlamydia pneumoniae-IgG-sELISA medac

Français

CE
0123

430-TMB-VPF/011110

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

Chlamydia pneumoniae-IgG-sELISA medac

Trousse pour la détection par dosage immuno-enzymatique des anticorps IgG anti ***Chlamydia pneumoniae***

Réf.: 430-TMB

DESTINEE UNIQUEMENT AU DIAGNOSTIC IN VITRO

INTRODUCTION

Les Chlamydiae sont des bactéries pathogènes gram-négatives. Elles possèdent obligatoirement un cycle vital intracellulaire dans les couches superficielles des muqueuses, dans les cellules endothéliales, dans les cellules du muscle lisse et, d'après des récentes découvertes, dans certaines structures tissulaires du système nerveux central. Les Chlamydiae dépendent des phosphates riches en énergie de leur 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. trachomatis*** et ***C. pneumoniae*** sont des agents pathogènes stricts de l'homme. ***C. psittaci*** est pathogène pour l'homme et pour une grande variété d'espèces animales. Jusqu'à présent, ***C. pecorum*** a été isolé uniquement chez les animaux.

Les infections à ***C. pneumoniae*** surviennent dans le monde entier. L'éventail des maladies, en plus de maladies grippales, comprend sinusites, pharyngites, bronchites, maladies pulmonaires obstructives chroniques, pneumonie et arthrite réactive. Une implication de ***C. pneumoniae*** dans l'asthme infectieux, la sarcoïdose, le cancer pulmonaire, l'athérosclérose, l'infarctus aigu du myocarde, l'AVC, la sclérose multiple et l'apparition tardive de la maladie d'Alzheimer est actuellement en cours d'investigation.

D'après Grayston et Saikku (1989), qui ont été les premiers à décrire cette espèce de chlamydia, presque tout le monde est infecté et réinfecté par ***C. pneumoniae*** tout le long de sa vie. L'évolution symptomatique principalement faible et/ou diffuse des infections à ***C. pneumoniae*** rend leur détection plus difficile; des infections indécelables peuvent conduire vers une évolution chronique de la maladie avec des séquelles graves.

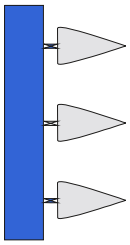
Le diagnostic des infections à ***C. pneumoniae*** réside dans l'isolement de l'agent pathogène dans les cultures cellulaires, la détection directe de l'antigène, les tests d'amplification de l'acide nucléique et la sérologie. L'isolation de l'agent pathogène dans les cultures cellulaires nécessite en général plusieurs étapes successives; c'est une technique longue réservée à des laboratoires spécialisés et seulement réussie dans quelques cas. Les dosages par immuno-fluorescence directe (IFA) et les dosages immuno-enzymatiques (EIA) n'ont pas été très largement utilisés ; on a signalé qu'ils sont d'une faible sensibilité et spécificité.

Pour la détection des anticorps spécifiques d'espèces, la micro-immunofluorescence (MIF) a été considérée comme "méthode de référence". La MIF est laborieuse, subjective, et nécessite beaucoup d'expérience. Ce système de dosage n'est pas standardisé; l'utilisation de différents antigènes et des différents critères pour établir la valeur seuil pour les infections passées et récentes ou actuelles, donne lieu à des variations significatives des résultats, entre les laboratoires.

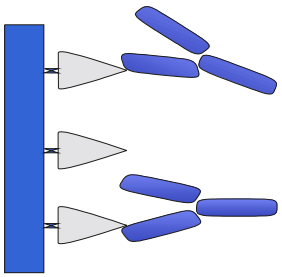
La méthode **Chlamydia pneumoniae-sELISA medac** utilise un antigène spécifique et hautement purifié. La détection des anticorps IgM, IgA, et IgG permet l'évaluation du stade de l'infection et le suivi après traitement.

La trousse **Chlamydia pneumoniae-sELISA medac** répond aux besoins de standardisation, objectivité, reproductibilité et automatisation dans le laboratoire, en routine.

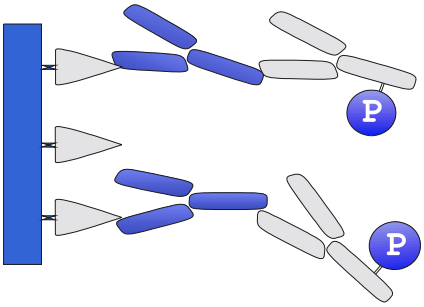
PRINCIPE DU DOSAGE



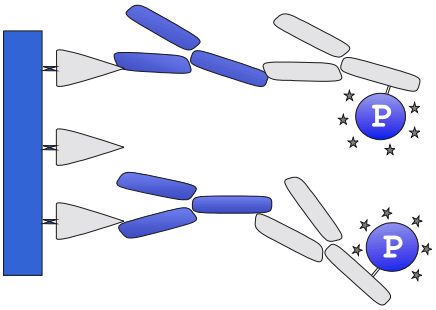
La plaque est revêtue avec une préparation antigénique spécifique fortement purifiée de ***C. pneumoniae***.



Les anticorps spécifiques anti-***C. pneumoniae*** présents dans l'échantillon, vont se lier à l'antigène.



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



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

Avantages du dosage

- ☞ Haute sensibilité et spécificité.
- ☞ Micropuits sécables permettant l'utilisation efficace du test.

CONTENU DE LA TROUSSE
Réf.: 430-TMB

1. **MTP**
   Microplaque: 12 x 8 puits en U, de couleur pink (avec support et déshydratant, dans un sachet d'aluminium sous vide), sécables, revêtus d'antigène spécifique de ***C. pneumoniae*** et avec du sérum foetal de veau, 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 sulfate 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 sulfate 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-IgG humaines conjuguées à de la peroxydase du raifort (HRP). Prête à l'emploi, couleur verte. Contient de la SAB, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulfate 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 (H_2SO_4) 0,5 M, prête à l'emploi.

1. CONSERVATION ET STABILITE

Materiel/Reactifs	Etat	Conservation	Stabilite
Trousse	non ouvert	2...8 °C	jusqu'à date de péremption
Microplaque	ouvert	2...8 °C dans le sachet avec déshydratant	12 semaines
Contrôles	ouvert	2...8 °C	12 semaines
Tampon de lavage	dilué	2...8 °C	12 semaines
Diluant pour échantillons	ouvert	2...8 °C	12 semaines
Conjugué	ouvert	2...8 °C	12 semaines
TMB-substrat	ouvert	2...8 °C	12 semaines
Solution d'arrêt	ouvert	2...8 °C	jusqu'à date de péremption

Ne pas utiliser les réactifs après leur date de péremption.

2. REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

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 à 450 nm et 620 - 650 nm.

3. PREPARATION DES REACTIFS

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

Calculer le nombre de puits nécessaire.

3.1. Microplaque
Le sachet d'aluminium avec le déshydratant 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 neuf volumes d'eau pour injection [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 (max. 37 °C) ou en tournant, à température ambiante.

Ne pas mélanger les réactifs spécifiques du test (microplaque, contrôle, conjugué) de différents lots. Par contre, le diluant pour échantillons, le tampon de lavage, le substrat-TMB 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, 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 dilués au 1/50 avec le diluant pour échantillons.

5.A. PROCEDURE DE DOSAGE

5.1. Couper le sachet d'aluminium au-dessus du zip et extraire le nombre des puits nécessaire (voir 3.1.).

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

5.2. 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 TA.

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

5.4. Après incubation, laver les puits trois fois avec 200 µl de tampon de lavage dilué 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!

5.5. Ajouter le conjugué (vert) 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'utilisation du test sur les appareils automatiques a été validée pendant l'évaluation du test. Néanmoins nous recommandons de vérifier la compatibilité du test avec les appareils utilisés dans le laboratoire.

5.6. Incuber de nouveau la microplaque, pendant 60 min (± 5 min) à 37 °C (± 1 °C) en chambre humide ou recouverte avec un couvercle d'incubation.

5.7. Après incubation, laver les puits de nouveau (voir 5.4).

5.8. 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.

5.9. 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 min après l'ajout de la solution d'arrêt!

5.B. TABLEAU DE DISTRIBUTION DES REACTIFS

	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 fois avec 200 µl de tampon de lavage dilué				
Conjugué	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)
Incuber pendant 60 min à 37 °C, laver 3 fois avec 200 µl de tampon de lavage dilué				
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 (réf. 620 - 650 nm)				

*) procédure manuelle/automatique (voir 5.5.)

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 0,100.
* La valeur D.O. du **contrôle positif** doit être supérieure à **0,800.**
* **Valeur seuil (cut-off) = valeur moyenne D.O. du contrôle négatif + 0,380**
* **Zone grise = valeur seuil ± 10%**

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

6.B. INTERPRETATION DES RESULTATS

6.B.1. QUALITATIVE

Résultat	Interprétation
D.O. < zone grise	négatif
D.O. = Valeur seuil ± 10%	douteux
D.O. > zone grise	positif

6.B.2. SEMIQUANTITATIVE

Index seuil: $\frac{\text{D.O. echantillon}}{\text{D.O. seuil}}$	Interprétation
< 0,9	négatif
0,9 - 1,1	douteux
> 1,1	positif

* Des échantillons qui ont des valeurs de 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.

* Les IgA et IgM et avec résultats devraient être toujours interprétés conjointement avec les données cliniques et autres paramètres diagnostiques.

* Des concentrations élevées d'hémoglobine, de bilirubine et de lipides dans le sérum, n'ont pas d'influence sur les résultats.

* Des réactions croisées avec des anticorps anti-nucléaires, avec des anticorps hétérophiles, ainsi qu'avec des anticorps anti-***C. psittaci*** et anti-***C. trachomatis*** ne peuvent pas être exclus dans certains cas individuels.

6.C. INTERPRETATION SPECIFIQUE IgM/IgA/IgG

Résultats possibles IgG COI*	IgA COI	IgG COI	Interprétation
>1,1 +	<0,9 -	<0,9 -	1. Indication sérologique d'un stade précoce d'une infection ou stimulation polyclonale des cellules B. Retester IgM, IgA et IgG après 14 jours.
>1,1 +	>1,1 +	<0,9 -	2. Indication sérologique d'une infection aigüe. Retester les IgG après 14 jours.
>1,1 +	<0,9 -	>1,1 +	3. Indication sérologique d'une infection aigüe.
>1,1 +	>1,1 +	>1,1 +	4. Indication sérologique d'une infection aigüe.
<0,9 -	>1,1 +	>1,1 +	5. Indication sérologique d'une infection en cours[1]. Retester les IgA et IgG après 14 jours.
<0,9 -	<0,9 -	>1,1 +	6. Indication sérologique d'une infection passée. En cas de suspicion clinique retester les anticorps IgA et IgG après 14 jours.
<0,9 -	>1,1 +	<0,9 -	7. Indication d'un stade précoce d'une infection ou présence d'IgA persistants et solitaires[2]. Retester IgM, IgA et IgG après 14 jours.
<0,9 -	<0,9 -	<0,9 -	8. Pas d'indication sérologique d'une infection en cours ou passée[3]. En cas de suspicion clinique retester les anticorps IgM, IgA et IgG après 14 jours.

***Cut-off-index (index seuil)**

Commentaire:
Des résultats douteux peuvent indiquer des infections débutantes ou finissantes. Un retest après 14 jours est recommandé.

[1] Une infection en cours concerne:
- une infection chronique avec des agents pathogènes persistants: Les valeurs en COI des anticorps restent constantes pendant plusieurs semaines.
- infection aigüe: Les valeurs en COI des anticorps augmentent significativement.
- haute concentration en IgG: Une infection aigüe ne peut être exclue. Selon Grayston et al. (1989), des titres MIF en IgG ≥ 1:512 plaident pour une infection aigüe.

[2] Dans des cas individuels, des anticorps IgA solitaires peuvent persister. Ce phénomène immunologique apparaît dans différentes infections bactériennes. Une signification clinique n'est pas estimable.

[3] En cas d'infection récente aigüe à ***C. pneumoniae***, les résultats sérologiques d'anticorps peuvent être négatifs malgré des symptômes cliniques et une détection positive d'antigène. Si une confirmation sérologique d'un résultat positif d'antigène ou si un suivi sont désirés, nous recommendons de tester après 14 jours pour la séroconversion.

7. PERFORMANCE DU DOSAGE

Les performances du dosage ont été déterminées pendant l'évaluation de la trousse.

7.A. SPECIFICITE ET SENSIBILITE

Des sérums provenant de patients ne présentant pas de symptômes d'infection respiratoire ont été examinés pour déterminer la spécificité. Par MIF, on n'a pas détecté d'anticorps anti-***C. pneumoniae***.

Des sérums provenant de patients suspectés atteints d'infection respiratoire ont été examinés pour déterminer la sensibilité. Par MIF, des anticorps anti-***C. pneumoniae*** étaient détectables dans tous les sérums.

Groupe patients	**Spécificité**	
	IgA	**IgG**
Patients ne présentant pas d'infections respiratoires; pas d'anticorps anti-*C. pneumoniae* par MIF.	**93 % (n=86)**	**95 % (n=42)**

Groupe patients	**Sensibilité**	
	IgA	**IgG**
Patients avec d'infections respiratoire; tous les sérums présentaient des anticorps anti-*C. pneumoniae* par MIF.	**95 % (n=74)**	**99 % (n=117)**

7.B. PRECISION

Echant-illon	Variation Intra-essai				Echant-illon	Variation Interessais (n = 11)		
	D.O. moyenne	E.T.	CV (%)	n		D.O. moyenne	E.T.	CV (%)
NC	0,032	0,009	28	21	**NC**	0,035	0,004	11
BC	0,772	0,038	5	21	**BC**	0,824	0,073	9
PC	1,990	0,062	3	21	**PC**	2,133	0,149	7
N° 1	1,951	0,098	5	21	**N° 3**	1,655	0,140	8
N° 2	0,731	0,030	4	21	**N° 4**	1,027	0,087	8

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

INDICATIONS GENERALES

* 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.).

PRECAUTIONS D'EMPLOI

* Il faut appliquer la réglementation en vigueur en matière desécurité 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 déchets 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: 01.11.10

LITTÉRATURE

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).

Christiansen, G., Boesen, T., Hjerno, K., Daugaard, L., Mygind, P., Madsen, A.S., Knudsen, K., Falk, E., Birkelund, S.: Molecular biology of ***Chlamydia pneumoniae*** surface proteins and their role in immunopathogenicity. Am. Heart J. 138, 491-495 (1999).

Danesh, J., Collins, R., Peto, R.: Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? Lancet 350, 430-436 (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).

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

Grayston, J.T.: Epidemiology of ***Chlamydia pneumoniae*** (TWAR). In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11.-14. September, 211-214 (1996).

Grayston, J.T., Aldous , M.B., Easton, A., Wang, S.P., Kuo C.C., Campbell, L.A., Altman, J.: Evidence that ***Chlamydia pneumoniae*** causes pneumonia and bronchitis. J. Infect. Dis. 168, 1231-1235 (1993).

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).

Gurfinkel, E., Bozovich, G., Daroca, A., Beck, E., Mautner, B.: Randomised trial of roxithromycin in non-Q-wave coronary syndromes: ROXIS pilot study. Lancet 350, 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).

Hunter, S.F., Hafler, D.A.: Ubiquitous pathogens: Links between infection and autoimmunity in MS? Neurology 55, 164-165 (2000).

Kuo, C. C., Jackson, L.A., Campbell, L.A., Grayston, J.T.: ***Chlamydia pneumoniae***(TWAR). Clin. Microbiol. Rev. 8, 451-461 (1995).

Layh-Schmitt, G., Bendl, C., Hildt, U., Dong-Si, T., Jüttler, E., Schnitzler, P., Grond-Ginsbach, C., Grau, A.J.: Evidence for infection

with ***Chlamydia pneumoniae*** in a subgroup of patients with multiple sclerosis. Ann. Neurol. 47, 652-655 (2000).

Maass, M., Bartels, C., Engel, P.M., Mamat, U., Sievers, H.H.: Endovascular presence of viable ***Chlamydia pneumoniae*** is a common phenomenon in coronary artery disease. J. Am. Coll. Cardiol. 31, 827-832 (1998).

Muhlestein, J.B.: The link between ***Chlamydia pneumoniae*** and atherosclerosis. Infect. Med. 14, 380-382, 392, 426 (1997).

Saikku, P.: Chronic ***Chlamydia pneumoniae*** infections. In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11.-14. September. 215-218 (1996).

Saikku, P., Leinonen, M., Mattila, K., Ekman, M.R., Nieminen, M.S., Mäkela, P.H., Huttunen, J.K., Valtonen, V.: Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. Lancet 2, 983-986 (1988).

Saikku, P., Leinonen, M., Tenkanen, L., Linnanmäki, E., Ekman, M.R., Manninen, V., Manttari, M., Frick, M.H., Huttunen, J.K.: Chronic ***Chlamydia pneumoniae*** infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. Ann. Intern. Med. 116, 272-278 (1992).

Samra, Z., Soffer, Y.: IgA antichlamydial antibodies as a diagnostic tool for monitoring of active chlamydial infection. Eur. J. Epidemiol. 8, 882-884 (1992).

Schumacher, H.R.: Chlamydial Arthritis. In: Chlamydia Research. Pekka Saikku (ed.). Proceedings of the 4th Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Helsinki, Finland, 20.-23. August. 229 (2000).

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

Stille, W., Just-Nübling, G.: Argumente für eine Antibiotika-Therapie der Arteriosklerose. Chemotherapie Journal 6, 1-5 (1997).