



savyonDIAGNOSTICS

96

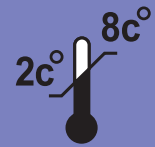
REF A291-01M

SeroCP™ Quant IgG

Enzym-Immunoassay (ELISA)
für die semiquantitative Bestimmung
von spezifischen IgG-Antikörpern
gegen *Chlamydia pneumoniae*
in menschlichem Serum

Nur für Fachpersonal

IVD



CE 0483

G

SeroCP™ Quant IgG

Verwendungszweck

Der SeroCP™ Quant IgG-Testkit ist ein Enzym-Immunoassay (ELISA) für die semiquantitative Bestimmung von Spezies-spezifischen IgG-Antikörpern gegen *Chlamydia pneumoniae* in menschlichem Serum.

Nur zur *in vitro*-Diagnostik.

Einleitung

Chlamydia pneumoniae (TWAR-183) gewinnt als Infektionserreger mit einem breiten Krankheits-spektrum zunehmend an Bedeutung und umfasst Infektionen der oberen und unteren Atemwege (1). *C.pneumoniae*-Infektionen verlaufen meistens leicht und asymptomatisch, können jedoch schwere Krankheitsbilder verursachen, wie zum Beispiel Pharyngitis, Nebenhöhlenentzündungen, akute Bronchitis und ambulant erworbene Pneumonien. Unerkannte und unbehandelte Infektionen können zu einer längeren und hartnäckigen Krankheit führen. Befunde aus jüngster Zeit zeigen einen möglichen Zusammenhang zwischen

C.pneumoniae-Infektionen und chronischen Erkrankungen (2).

C.pneumoniae zeigt eine niedrige Seroprävalenz in Kindern, nimmt bis zum mittleren Alter aber stark zu und bleibt danach hoch (> 50 %).

Schwierigkeiten bei der Probenentnahme und die Unzugänglichkeit des befallenen Areals haben schwerwiegende negative Auswirkungen auf die Verwendbarkeit direkter Nachweismethoden. Daher werden üblicherweise serologische Nachweise als nicht-invasive Methoden zur Identifizierung sowohl distaler als auch chronischer Chlamydien-Infektionen (3) angewendet, wobei direkte Nachweismethoden selten effizient sind (4). Darüber hinaus kann die Anwesenheit bestimmter Antikörpertypen auch den Zustand der Erkrankung anzeigen.

Die Erstinfektion durch Chlamydien ist vorwiegend durch eine IgM-Antwort innerhalb von 2 bis 4 Wochen gekennzeichnet und eine verzögerte IgG- und IgA-Antwort innerhalb von 6 bis 8 Wochen. Nach einer akuten *C. pneumoniae*-Infektion verschwinden IgM-Antikörper normalerweise innerhalb von 2 bis 6 Monaten (5). IgG-Antikörper-Titer nehmen normalerweise langsam ab, während IgA-Antikörper-Titer dahin tendieren, schneller abzusinken (6). Wenn eine Erstinfektion durch Chlamydien vermutet wird, hat der Nachweis von IgM einen hohen diagnostischen Aussagewert (7). Bei wiederkehrenden oder chronischen Infektionen hat IgM eine niedrige Prävalenz, und deshalb kann eine bestehende Infektion durch die Abwesenheit von IgM nicht unbedingt ausgeschlossen werden.

Reinfektionen führen zu einer schnelle Erhöhung der Spiegel von IgG und/oder IgA, meist innerhalb von ein bis zwei Wochen (8).

IgA-Antikörper haben sich als zuverlässige immunologische Marker für primäre, chronische und wiederkehrende Infektionen erwiesen. Die Konzentration dieser Antikörper nimmt normalerweise nach der Behandlung und Eliminierung einer Chlamydien-Infektion (3) ab bis Normalwerte erreicht werden. Andauernd hohe IgA-Antikörper-Titer werden generell als Zeichen einer chronischen Infektion betrachtet (6). IgG-Antikörper persistieren sehr lange im Blut und nehmen nur sehr langsam ab. Die Anwesenheit von IgG-Antikörpern ist daher hauptsächlich ein Anzeichen dafür, dass eine Chlamydien-Infektion zu einem unbestimmten Zeitpunkt stattgefunden hat. Aber ein vierfach erhöhter IgG-Wert oder ein stark erhöhter IgG-Antikörperspiegel kann auf eine Reinfektion oder eine bestehende chronische Infektion hinweisen.

SeroCP Quant ist ein ELISA-Nachweis, bei dem speziell gereinigte *C.pneumoniae* (TWAR-183) Elementarkörperchen als Antigene verwendet werden, um die Immunantwort beim Menschen nachzuweisen. Zur vollständigen Diagnose von laufenden, chronischen oder vergangenen Infektionen, wird die Bestimmung von IgG-, IgM- und IgA-Antikörpern gegen *C.pneumoniae* empfohlen.

Testprinzip

- Die SeroCP™ Quant-Platten sind mit speziell aufgereinigten Elementarkörperchen von *C.pneumoniae* (TWAR-183) Antigenen vorbeschichtet.
 - Das zu bestimmende Serum wird verdünnt und in der SeroCP™ Quant-Platte eine Stunde lang bei 37°C inkubiert. In diesem Schritt werden die *C.pneumoniae*-Antikörper an die immobilisierten Antigene gebunden.
 - Unspezifische Antikörper werden durch Waschen entfernt.
 - Anti-human IgG-Meerrettichperoxidase (HRP)-Konjugat wird hinzugefügt und für eine Stunde bei 37°C inkubiert. In diesem Schritt bindet das HRP-Konjugat an den vorgebundenen Antigen-Antikörper-Komplex.
 - Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt.
 - Die Zugabe von TMB-Substrat führt zu einer substrat-Hydrolyse durch Peroxidase unter Bildung einer blaugefärbten Lösung des reduzierten Substrates.
 - Nach Zugabe der Stopplösung, wechselt die Farbe von blau nach gelb und wird in einem ELISA-Gerät bei einer Wellenlänge von 450/620nm gemessen.
 - Die Extinktion ist zur Menge an spezifischen Antikörpern proportional, die an die beschichteten Antigene gebunden sind.
-

Testbestandteile

Testkit für 96 Bestimmungen

1. ***C.pneumoniae* Antigen-beschichtete Mikrotiterplatte:** 96 Vertiefungen in 12 Einzelstreifen zu je 8 Vertiefungen, beschichtet mit *C.pneumoniae*-Antigenen in einem Beutel aus Aluminiumfolie, der einen Trocknungsstreifen enthält
1 Platte
2. **Waschpuffer-Konzentrat (20 fach konzentriert):** PBS-Tween-Puffer (pH 7,4-7,6), enthält NaCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄ und Tween 20.
1 Flasche, 100ml
3. **Serumverdünnung (blau):** gebrauchsfertige Pufferlösung; enthält weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel
1 Flasche, 60ml
4. **Konjugatverdünnung (grün):** gebrauchsfertige Pufferlösung; enthält weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel.
1 Flasche, 40ml
5. **Negativ-Kontrolle:** gebrauchsfertiges *C.pneumoniae* IgG-negatives Humanserum; enthält weniger als 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel
1 Fläschchen, 2ml
6. **Positiv-Kontrolle:** gebrauchsfertiges *C.pneumoniae* IgG-positives Humanserum; enthält weniger als 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel
1 Fläschchen, 2ml
7. **P10-Kalibrator:** gebrauchsfertiges *C.pneumoniae* IgG-positives Humanserum mit 10 BU/ml IgG; enthält weniger als 0,1% Natriumazid und weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel
1 Fläschchen, 2ml
8. **P50-Kalibrator:** gebrauchsfertiges *C.pneumoniae* IgG-positives Humanserum mit 50 BU/ml IgG; enthält weniger als 0,1% Natriumazid und weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel
1 Fläschchen, 2ml
9. **P100-Kalibrator:** gebrauchsfertiges *C.pneumoniae* IgG-positives Humanserum mit 100 BU/ml IgG; enthält weniger als 0,1% Natriumazid und weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel
1 Fläschchen, 2ml
10. **Konzentriertes HRP-Konjugat (300fach konzentriert):** Meerrettichperoxidase (HRP) konjugiert mit anti-human IgG (spezifisch für die gamma-Kette); enthält weniger als 0,05% Proclin als Konservierungsmittel
1 Fläschchen, 0,2ml
11. **TMB-Substrat:** gebrauchsfertige Lösung; enthält 3, 3', 5, 5'-Tetramethylbenzidin als Chromogen und Peroxid als Substrat
1 Flasche, 14ml
12. **Stopplösung:** gebrauchsfertige Lösung; enthält 1 M H₂SO₄
1 Flasche, 15ml
13. **Plattendeckel:**
1 Stück
14. **Arbeitsanleitung:**
1

Zusätzlich benötigtes Material (nicht im Lieferumfang enthalten)

1. Saubere Gefäße zur Verdünnung der Patientenserum
 2. Einweg-Plastikfläschchen zur Verdünnung des konzentrierten HRP-Konjugats
 3. Einstellbare Mikropipetten oder Multi-kanalpipetten (5-50, 50-200 und 200-1000µl) und Einwegspitzen
 4. 1-Liter-Messkolben
 5. 50ml-Messzylinder
 6. Waschflasche
 7. Saugpapier
 8. Vortex Mischer
 9. 37°C Wasserbad mit Deckel oder eine feuchte Kammer in einem 37°C Inkubator
 10. ELISA-Mikrotiterplatten-Reader mit 450 und 620nm Filter
 11. Destilliertes oder doppelt-deionisiertes Wasser
-

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Nur zur in vitro-Diagnostik

1. Menschliche Seren, die in diesem Testkit enthalten sind wurden nach FDA- und CE genehmigten Methoden geprüft und als negativ für HBsAg-, HCV- und HIV- 1 & 2 Antikörper befunden. Dennoch ist bei Produkten menschlichen Ursprungs mit keinem der derzeit verfügbaren analytischen Verfahren mit letzter Sicherheit auszuschließen, dass diese Krankheiten übertragen können. Daher müssen alle in diesem Testkit enthaltenen Reagenzien menschlichen Ursprungs nach den Empfehlungen, veröffentlicht in der CDC/NIH Anleitung „Biosafety in Micro Biological and Biomedical Laboratories 1988“, grundsätzlich als potenziell infektiöses Serum oder Blut angesehen und entsprechend behandelt werden.
 2. Die TMB-Substrat-Lösung reizt Haut und Schleimhäute. Direkter Kontakt ist zu vermeiden.
 3. Alle Bestandteile dieses Testkits wurden chargenweise kalibriert und geprüft. Das Mischen von Bestandteilen aus verschiedenen Chargen wird nicht empfohlen, da es Auswirkungen auf die Ergebnisse haben kann.
 4. Verdünnte Schwefelsäure (1M H₂SO₄) reizt Augen und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser auswaschen und einen Arzt aufsuchen.
-

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

1. Alle vorliegenden Reagenzien sollten bei 2-8°C gelagert werden. Reagenzfläschchen sind bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum ungeöffnet haltbar. Kitbestandteile in Flaschen mit Original-verschlüssen können für wenige Stunden Zimmertemperatur ausgesetzt werden, ohne die Reagenzien zu beeinträchtigen. **Nicht einfrieren!**

2. Reagenzien sind nach Anbruch 90 Tage haltbar.
3. Nicht benutzte Streifen müssen mit dem Trocknungsstreifen in dem Aluminiumbeutel wieder versiegelt werden. Das offene Ende sollte gerollt und durch Klebeband über die gesamte Länge der Öffnung dicht verschlossen werden.
4. Es können sich in dem 20fach-konzentrierten Waschpuffer während der Kühlung Kristalle bilden, dies ist absolut normal. Kristalle durch Erwärmung des Puffers auf 37°C vor der Verdünnung wieder auflösen. Nach der Verdünnung kann die Lösung 21 Tage lang bei 2-8°C gelagert werden.

Serumgewinnung

Seren aus aseptisch gewonnenen Proben mit Standardmethoden vorbereiten. Hitze-inaktivierte Seren sollen nicht eingesetzt werden. Die Verwendung von lipämischen, trüben oder kontaminierten Seren wird nicht empfohlen. Teilchen oder Niederschläge in den Seren können die Ergebnisse verfälschen. Solche Proben sollten vor der Bestimmung durch Zentrifugieren oder Filtration aufgereinigt werden.

Lagerung der Proben

Proben sollten bei 2-8°C gelagert und innerhalb von 7 Tagen gemessen werden (Zusatz von 0,1% Natriumazid empfohlen). Sollte eine längere Lagerung vorgesehen sein, sollten die Proben aliquotiert und bei mindestens -20°C gelagert werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren vermeiden.

Testablauf - Manuell

Protokolle für die automatisierte Abarbeitung sind auf Anfrage erhältlich

A. Vorbereitung der Reagenzien

1. Alle Bestandteile des Kits und die zu prüfenden klinischen Proben vor Beginn des Tests auf Raumtemperatur bringen. Kalibratoren (P10, P50, P100), Negativ-Kontrolle, Positiv-Kontrolle und klinische Proben vor Gebrauch gründlich mischen.
2. Gesamtzahl der zu prüfenden Proben bestimmen. Zusätzlich zu den Vertiefungen für die Proben, sind eine Vertiefung für die Positiv-Kontrolle, eine Vertiefung für die Negativ-Kontrolle und drei Vertiefungen für die Kalibratoren (P10, P50, P100) vorzusehen.
3. Entnehmen Sie die Mikrotiterplatte durch Abschneiden eines Endes nahe der Versiegelung aus dem Aluminiumbeutel. Je nach Probenaufkommen die nötige Anzahl der Streifen in den Rahmen der Mikrotiterplatte einsetzen.
4. Waschpufferkonzentrat 1:20 mit doppelt-deionisiertem oder destilliertem Wasser verdünnen. Zum Beispiel: Um einen Liter Waschpuffer vorzubereiten, 50ml Waschpufferkonzentrat zu 950ml doppelt-deionisiertem oder destilliertem Wasser hinzugeben.

B. Inkubation der Serenproben und Kontrollen

5. Jedes Patientenserum 1:400 mit der mitgelieferten Serumverdünnung nach einer der folgenden Alternativen verdünnen:
 - a. **Bei Verwendung eines Automaten (für diese Methode wird eine zusätzliche Flasche Serumverdünnung benötigt):**
 - 10µl Patientenserum zu 990µl Serumverdünnung (1:100) geben.
 - 45µl Serumverdünnung in jede Vertiefung des Teststreifens pipettieren. 15µl der 1:100 vorverdünnten Probe in jede Vertiefung geben.
 - Danach je 60µl der gebrauchsfertigen Positiv-Kontrolle, Negativ-Kontrolle und 3 Kalibratoren (P10, P50, P100) in getrennte Vertiefungen pipettieren.
 - b. **Für die manuelle Bestimmung empfohlen:**
 - 10µl Patientenserum zu 190µl Serumverdünnung (1:20) geben.
 - 10µl der 1:20 Verdünnung mit 190µl Serumverdünnung weiterverdünnen.
 - Danach je 50µl gebrauchsfertige Positiv-Kontrolle, Negativ-Kontrolle, 3 Kalibratoren und verdünnte Serumproben in getrennte Vertiefungen der Streifen pipettieren.
6. Streifen mit einem Plattendeckel abdecken und für 1 Stunde bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubieren.
7. Den flüssigen Inhalt der Vertiefungen verwerfen.
8. **Waschschritt:** jede Vertiefung bis unter den Rand (300-350µl) mit Waschpuffer füllen und dann Flüssigkeit verwerfen. Wiederholen sie diesen Schritt noch zwei weitere Mal, also insgesamt sollte der Waschschritt dreimal erfolgen.
9. Streifen und Rahmen durch leichtes Abklopfen über sauberem Saugpapier trocknen.

C. Inkubation mit Konjugat

10. Um die Arbeitslösung herzustellen, sollte das konzentrierte anti-human IgG HRP-Konjugat kurz vor Gebrauch mit Konjugatverdünnung verdünnt werden. Das konzentrierte anti-human IgG-HRP-Konjugat im Verhältnis 1:300 mit Konjugatverdünnung verdünnen. Es wird empfohlen immer mindestens 3ml verdünntes HRP-Konjugat vorzubereiten (10µl konzentriertes anti-human IgG-HRP-Konjugat mit 3ml Konjugatverdünnung mischen).
11. 50µl verdünntes Konjugat in jede Vertiefung pipettieren.
12. Die Streifen mit der Abdeckung bedecken und in einer Feuchtekammer bei 37°C für 1 Stunde inkubieren.
13. Flüssigen Inhalt verwerfen und wie in den Schritten 8-9 beschrieben waschen.

D. Inkubation mit TMB-Substrat

14. 100µl TMB-Substrat in jede Vertiefung einpipettieren, Abdeckung auf die Streifen legen und **15 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
 15. Reaktion durch Einpipettieren von 100µl Stopplösung (1M H₂SO₄) in jede Vertiefung beenden.
- E. Auswertung der Ergebnisse
16. Extinktion bei 450/620nm messen und Ergebnisse aufzeichnen. Die Messung sollte innerhalb von 30 Minuten nach Beenden der Stopreaktion erfolgen.

Hinweis: Eventuell vorhandene Luftbläschen sollten vor der Messung entfernt werden. ELISA-Plattenboden vorsichtig abwischen.

Test Validierung

Folgende Kriterien müssen erfüllt sein, damit der Test ausgewertet werden kann. Sollten diese Kriterien nicht erfüllt sein, ist der Test als ungültig anzusehen und sollte wiederholt werden.

1. $O.D_{P100/P10} > 2.5$
 2. $O.D_{P50/P10} > 1.7$
 3. NK sollte bei < 10 BU/ml liegen
 4. PK sollte bei > 30 BU/ml liegen
-

Berechnung der Test-Ergebnisse

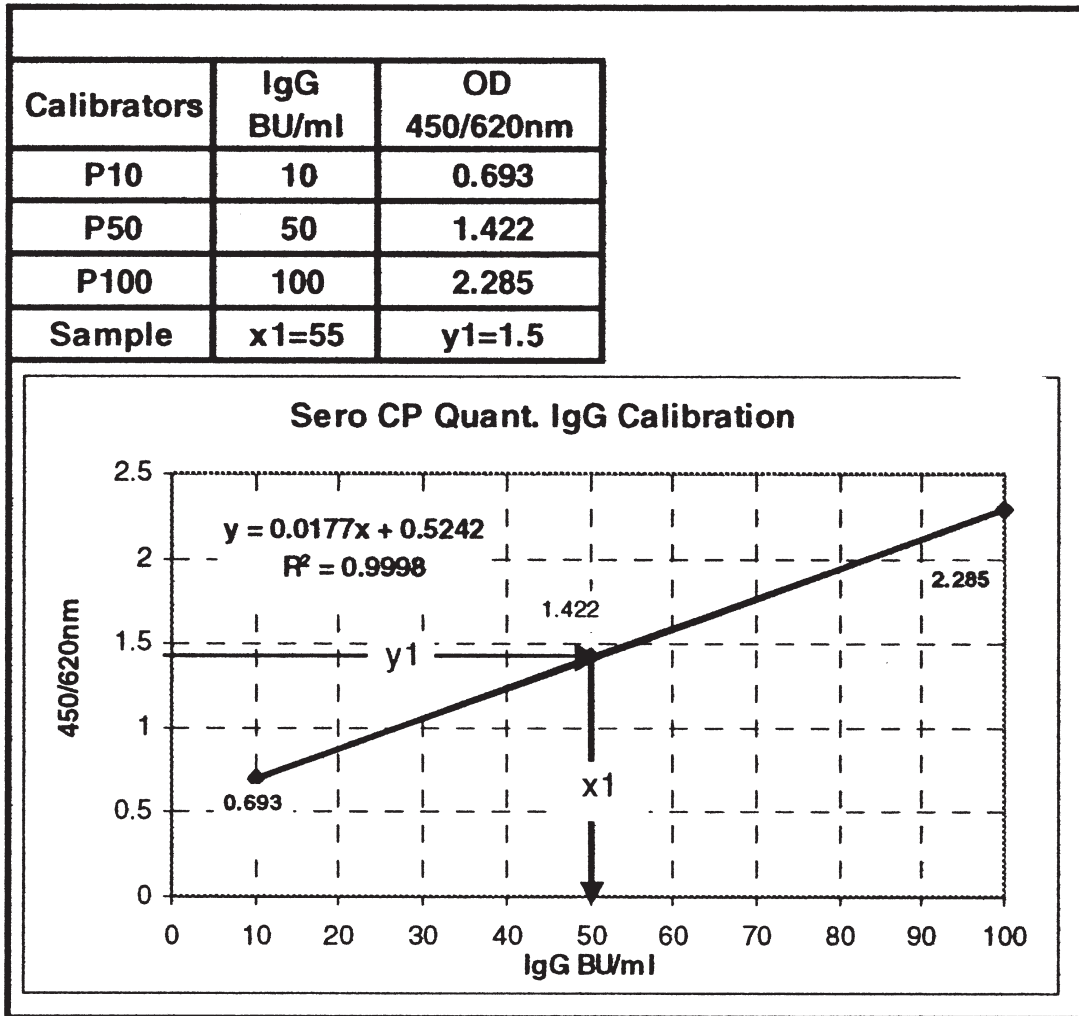
Manuelle Methode unter Verwendung von kariertem Millimeterpapier:

1. Die Extinktionswerte (OD) der 3 Kalibratoren (P10, P50 und P100) auf die Y-Achse gegen die Konzentration (BU/ml) auf der X-Achse auftragen
2. Eine Ausgleichsgerade durch die Punkte ziehen
3. Mit Hilfe der Standardkurve die Probenkonzentrationen (in BU/ml) durch Interpolation der Extinktion ermitteln (siehe Beispiel 1)

Beispiel 1: Interpolation der Ergebnisse

Auf der Y-Achse den Extinktionswert der Probe ablesen und eine horizontale Linie zur Ausgleichsgeraden ziehen.

Vom Abschnitt eine vertikale Linie zur X-Achse ziehen und die Konzentration der Probe in BU/ml ermitteln



Interpretation der Ergebnisse

IgG BU/ml	Ergebnis	Diagnostische Interpretation
< 10 BU/ml	Negativ keine nachweisbaren IgG-Antikörper vorhanden	Kein Hinweis auf eine <i>C.pneumoniae</i>-Infektion
≥ 10 BU/ml	Positiv relevante IgG- Antikörperspiegel	Hinweis auf eine aktive oder abgelaufene <i>C.pneumoniae</i>-Infektion¹

BU: Binding units (Einheiten)

¹ Zur Unterscheidung von abgelaufenen und akuten Infektionen wird empfohlen eine zweite Proben nach 2-4 Wochen zu entnehmen. Wenn der EPT-Wert dieser zweiten Proben gegenüber dem der ersten Probe 4fach erhöht ist (benutzen Sie nachstehende Tab.1), gilt eine Infektion als sicher.

Korrelation der SeroCP™ Quant Ergebnisse mit SeroFIA™ IgG – MIF Endpunkt-Titern (EPT)

SeroCP™ Quant IgG semiquantitative Kits wurden mit einem MIF-System (SeroFIA IgG, Savyon Diagnostics Ltd., Israel) kalibriert. Diese Korrelation zwischen SeroCP™ Quant BU/ml und Sero FIA EPT ist in Tabelle 1 gezeigt.

Tabelle 1

SeroCP™ Quant IgG Bereich BU/ml	SeroFIA™ IgG Endpunkt-Titer
< 10	Negativ
10-30	64
31-50	128
51-80	256
> 80	≥ 512

Hinweis: Es gibt keine Standardisierung der verschiedenen MIF-System-Ergebnisse. Jeder MIF-Test könnte verschiedene EPT-Werte generieren.

Test Charakteristika

Vergleich der SeroCP™ Quant IgG mit SeroCP™ IgG

SeroCP™ Quant IgG wurde im Vergleich zum SeroCP™ IgG (Savyon Diagnostics Ltd. Katalog Nr. 191-01) evaluiert.

Die Studie wurde mit 197 Serenproben symptomatischer Probanden und 34 Serenproben gesunder Probanden durchgeführt.

Die folgende Sensitivität und Spezifität wurden berechnet:

Sensitivität: 190/197 = 96.4%

Spezifität: 33/34 = 97%

Kreuzreaktivität

Hospitalisierte Patienten mit Infektionen durch

C.trachomatis, *CMV* und *EBV*, deren Diagnosen mit kommerziell verfügbaren serologischen Testkits erstellt worden waren, wurden anschließend mit dem SeroCP™ Quant-Testkit untersucht. Dabei wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt.

Grenzen des Tests

1. Eine endgültige Diagnose sollte niemals ausschließlich auf den Ergebnissen eines einzelnen serologischen Test erstellt werden. Alle klinischen Symptome und Laborwerte sollten in die Diagnosestellungen mit einbezogen werden.
 2. Proben, die während einer Primärinfektion zu einem zu frühen Zeitpunkt entnommen werden, müssen nicht zwingend nachweisbare Antikörper enthalten. Wenn eine Chlamydieninfektion vermutet wird, sollte nach 2-4 Wochen eine zweite Serumprobe entnommen und parallel mit der ersten Proben getestet werden.
 3. Wechselwirkungen: Die Verwendung von lipämischen, trüben oder kontaminierten Seren wird nicht empfohlen. Partikuläres Material und Präzipitate können zu fehlerhaften Resultaten führen. Solche Proben sollten vor der Testung durch Zentrifugation oder Filtration gereinigt werden.
-

Bibliography

1. Kuo, C.C., Jackson L.A. and Grayston, J.T. (1995). *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) Clin Microbiol REV; 8:451-461.
2. Saikku, P., Leinonen, M., Tenkanen, L., Linnanmaki, E., Ekman, M.R., Manninen, V., Manttari, M., Frick, M.H. and Huttunen, J.K. (1992). Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki heart study. Ann. Intern. Med. 116: 273-278.
3. Puolakkainen, M., Saikku, P., Leinonen, M., Nurminen, M., Vaananen, P. and Makela, P.H. (1984). *Chlamydia pnemonitis* and its serodiagnosis in infants. J. Infect. Dis. 149: 598-604.
4. Campbell, L.A. (1993). PCR detection of *Chlamydia pneumoniae* In Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications (Persing, D.H., Smith, T.F., Tenover, F.C. and White, T.J., Eds). ASM Press. pp. 247-252.
5. Henry-Suchet, J., Askienazy-Elbhar, M., Thibon, M., Revol, C. and Akue, B.A. (1994). Post-therapeutic evolution of serum *chlamydia* antibody titers in women with acute salpingitis and tubal infertility. Fertility and Sterility. 62: No. 3.
6. Saikku, P., Matila, K., Nieminen, M.S., Huttunen, J.K., Leinon, M., Eckman, 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 Infarction. Lancet. 2: 983-986.
7. Grayston, J.T., Cambell, L.A., Mordhorst, C.H., Saikku, P., Thom, D. and Wang, S.P. (1989). A New Respiratory Pathogen: *Chlamydia pneumoniae* Strain TWAR. J. Inf. Dis. 161: 618-625.
8. Saikku, P., Leinonen, M., Tenkanen, L., Linnanmaki, E., Ekman, M.R., Mannin, V., Manttari, M., Frick, M.H. and Huttunen, J.K. (1992). Chronic *Chlamydia pneumoniae* Infections as a Risk Factor for Coronary Heart Disease in the Helsinki Heart Study. Ann. of Int. Med. 116: 273-278..

M291-01G 04-10/13



SAVYON DIAGNOSTICS Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 77610, Israel
Tel: 972.8.8562920 Fax: 972.8.8523176
e-mail: support@savyondiagnosics.com



Obelis s.a. (European Authorized Representative)
Boulevard Général Wahis 53, 1030 Brussels, Belgium
Tel.: +32.2.732.59.54 Fax.: +32.2.732.60.03
e-mail: mail@obelis.net