



savyonDIAGNOSTICS

96
192

SeroCT™ IgG

REF A181-01M

REF B181-01M

Test ELISA pour la détection des anticorps IgG anti-*Chlamydia trachomatis* dans le sérum humain

Pour usage professionnel uniquement

CE 0483

SeroCT™ - IgG

Utilisation

SeroCT™- IgG permet de détecter les anticorps spécifiques anti-*Chlamydia trachomatis* de type IgG dans le sérum humain.

Le coffret SeroCT™- IgG est une technique ELISA de nouvelle génération, utilisant des peptides de synthèse spécifiques de *C. trachomatis*.

Le coffret SeroCT™- IgG peut être utilisé avec le coffret SeroCT™- IgA de Savyon® pour une meilleure interprétation de la sérologie.

Usage Diagnostique **IN VITRO**

Introduction

Les chlamydiae sont des bactéries intracellulaires essentielles à gram négatif qui provoquent des affections aiguës et chroniques chez les mammifères et les oiseaux. Le genre Chlamydiae se compose de quatre espèces: *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci* et *C. pecorum* (1-4).

C. trachomatis se divise en 15 serovars (5-8). Les serovars A, B, Ba et C sont les agents infectieux à l'origine du trachome (9), la première cause de cécité évitable dans le tiers monde. Les serovars L₁-L₃ sont les agents infectieux à l'origine de la lymphogranulomatose vénérienne. Les serovars D-K sont couramment en cause dans les infections génitales sexuellement transmissibles dans le monde entier, infections telles que cervicite, endométrite, salpingite (10) chez les femmes, et urétrite (11) chez les hommes et les femmes. L'endométrite ou la salpingite peuvent mener à l'oblitération des trompes, entraînant une élévation du risque de grossesse extra utérine et de stérilité. Les infections génitales peuvent aussi apparaître sous forme d'infections persistantes sans symptômes cliniques. En général, ces infections sont traitées une fois diagnostiquées. Lorsqu'aucun traitement n'intervient, elles peuvent évoluer vers une grave inflammation chronique et aboutir à la stérilité à une grossesse ectopique, à des avortements à répétition et à des naissances prématurées. De plus, les nourrissons nés d'une mère infectée peuvent être infectés à leur tour durant l'accouchement et contracter une conjonctivite ou une pneumonie (12-14). La sérologie de *C. trachomatis* est plus intéressante dans les infections chroniques que dans les infections aiguës.

C. pneumoniae est un agent pathogène important chez l'être humain, à l'origine de 10% des pneumonies contractées en communauté. Il est associé à des affections respiratoires aiguës, à la pneumonie, à l'asthme, à la bronchite, la pharyngite, au syndrome pulmonaire aigu de la drépanocytose, aux maladies coronariennes et au syndrome de Gullain-Barre (15-17).

C. psittaci affecte un large éventail d'espèces, des mollusques aux oiseaux et aux mammifères et provoque également de graves pneumonies. Chez les animaux, *C.*

psittaci et *C. pecorum* peuvent induire divers syndromes tels que la pneumonie, l'entérite, la polysérite, l'encéphalite et la conjonctivite.

Les analyses sérologiques ont abouti à une réponse fiable au problème posé par la détection des infections à *C. trachomatis*. Lorsque l'on soupçonne une infection déclarée, le prélèvement d'échantillon de serum limite le besoin de procéder à des techniques agressives, nécessaires au diagnostic direct des agents pathogènes. En cas d'infection de la partie inférieure des voies uro-génitales, il faut tenir compte des limites propres aux techniques de prélèvement, telles que l'efficacité du prélèvement par frottis et les difficultés de manipulation et de transport des échantillons. Le problème reste avant tout que la plupart des infections à Chlamydia sont asymptomatiques. Une telle infection peut donc durer longtemps, progresser le long des voies génitales supérieures et y causer une infection profonde et chronique et, de ce fait, augmenter la probabilité de résultats faussement négatifs au diagnostic direct des agents pathogènes.

Le diagnostic sérologique de *C. trachomatis* par la détection de divers anticorps spécifiques représente désormais une technique efficace et souvent mise en œuvre (10, 11, 18, 19). Des technologies nouvelles et affinées utilisent les marqueurs de l'immunoglobuline IgM, IgA et IgG afin de déceler la présence de l'agent pathogène et la phase de l'infection.

L'IgM spécifique indique une infection aiguë à Chlamydiae. Cependant, l'absence d'IgM n'exclut pas la présence d'une infection continue, surtout dans les cas d'affection récurrente et chronique. On a pu prouver que l'IgA spécifique est un marqueur indiquant une affection active à Chlamydiae, étant donné la brièveté de sa durée de vie et le fait que l'IgA n'est présente que tant qu'elle est stimulée par un antigène. De plus, l'IgA permet également un suivi post thérapeutique. Un taux d'IgG élevé marque une réponse immunitaire positive provenant d'une infection à Chlamydiae en cours, chronique ou passée.

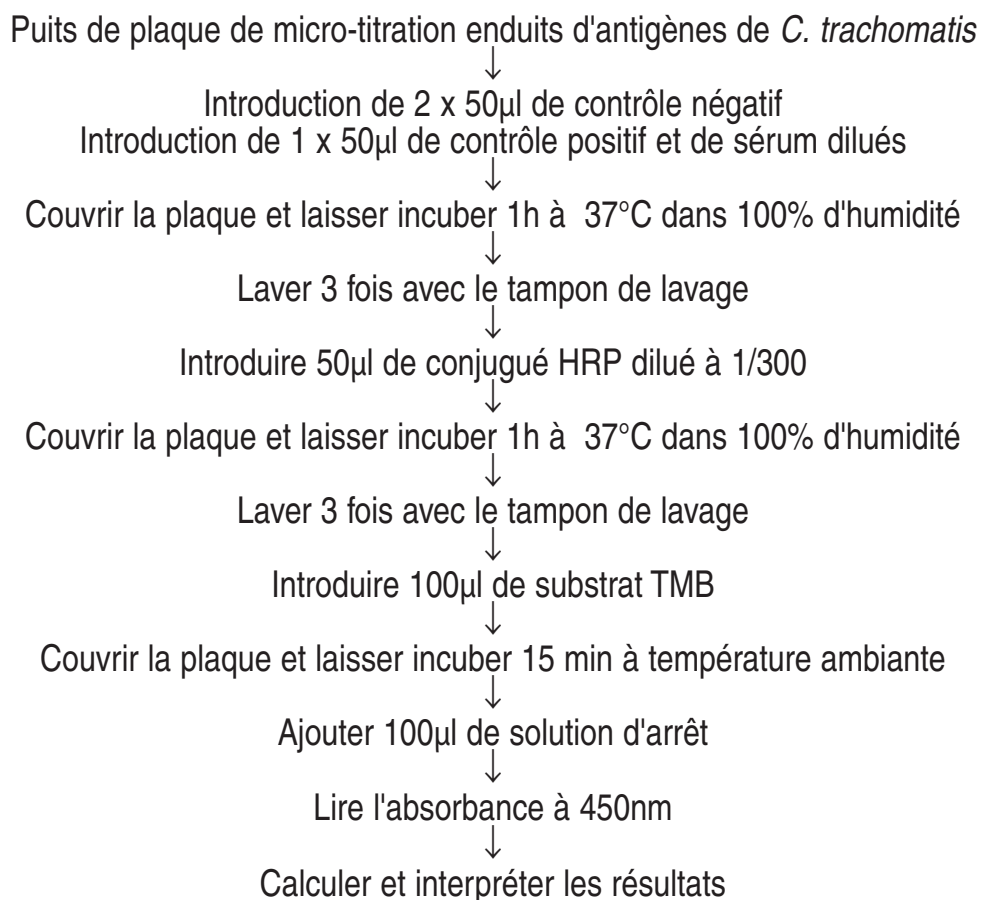
Les réactions croisées sérologiques sont fréquentes entre les différentes espèces de Chlamydiae. La plupart des analyses sérologiques destinées au diagnostic des Chlamydiae utilisent soit des corps élémentaires purifiés (analyses par micro-immunofluorescence (MIF) et analyses (ELISA), soit des lipo-polysaccharides (LPS) ou des protéines purifiées des membranes externes (MOMP) comme antigènes: puisque les épitopes spécifiques de genre sont présents dans tous les antigènes ci-dessus, la spécificité des espèces est généralement faible. De plus, puisqu'une forte proportion de la population a subi une exposition à *C. pneumoniae* sans toutefois présenter de symptômes cliniques, les anticorps spécifiques des Chlamydiae sont très largement répandus. La différenciation entre les anticorps spécifiques de *C. pneumoniae* et ceux spécifiques de *C. trachomatis* à l'aide de tests de dépistage sérologiques conventionnels (MIF, ELISA, EIA etc.) s'avère donc déficiente.

Savyon Diagnostics Ltd. a mis au point un test permettant le dépistage spécifique de *C. trachomatis* à l'aide d'une méthode immunoenzymatique (ELISA), capable de distinguer entre les différents anticorps des infections aux Chlamydiae décrits. Ce test utilise comme antigène des peptides spécifiques de *C. trachomatis*, ce qui exclut les épitopes des réactions croisées entre les espèces et permet donc de déceler de façon plus précise et plus spécifique les anticorps IgG et des IgA des infections à *C. trachomatis*.

Principe du test

- Des plaques de micro-titration SeroCT™ sont enduites de peptides spécifiques de *C. trachomatis*.
- Le sérum à tester est dilué puis mis à incuber à 37°C dans les plaques pré-enduites du test SeroCT™.
Lors de cette étape, les anticorps spécifiques de *C. trachomatis* de l'échantillon de sérum vont se fixer aux peptides spécifiques de *C. trachomatis* immobilisés.
- Les anticorps non spécifiques sont éliminés par lavage.
- On introduit une IgG anti-humaine conjuguée à de la peroxydase de raifort (HRP). Durant cette étape, le conjugué HRP va se fixer au complexe antigène-anticorps fixé auparavant.
- Le conjugué non fixé est éliminé par lavage.
- L'introduction de substrat de TMB provoque l'hydrolyse du substrat par la peroxydase, ce qui donne une solution bleue de substrat réduit.
- On introduit la solution d'arrêt, la couleur bleue vire au jaune, puis on la lit à l'aide d'un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 450nm.
- L'absorbance est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques fixés par les peptides immobilisés.

Résumé des étapes



Composition des coffrets:

Coffret de 96 déterminations

Référence: A 181- 01M Réf. en France: SAV 181 096

1. **1 plaque** de 12 barrettes de 8 puits sécables recouverts de peptides de synthèse spécifique de *C. trachomatis*. Chaque plaque est conditionnée dans un sachet aluminium contenant un agent déshydratant.
1 plaque
2. **Tampon de lavage concentré (20x)**: Un PBS-Tween Tampon.
1 flacon, 100 ml
3. **Diluant sérum (Bleu)**: Prêt à l'emploi. Contient du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 30 ml
4. **Diluant du conjugué (Vert)**. Prêt à l'emploi. Contient du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 40 ml
5. **Contrôle négatif**: Sérum humain négatif pour l'anticorps IgG anti-*Chlamydia trachomatis*. Prêt à l'emploi. Contient de l'azide de sodium <0.1% et du procli <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 2.5 ml
6. **Contrôle positif**: Sérum humain positif pour l'anticorps IgG anti-*Chlamydia trachomatis*., Prêt à l'emploi. Contient de l'azide de sodium <0.1% et du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 2.0 ml
7. **HRP-Conjugué concentré (300x)**: anti-IgG humaine (spécifique de la chaîne gamma) couplée à la peroxydase. Contient du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 0.2 ml
8. **Substrat/Chromogène**: 3,3',5,5', Tétraméthylbenzidine comme chromogène et peroxide comme substrat. Prêt à l'emploi.
1 flacon, 14 ml
9. **Solution d'arrêt**: Prête à l'emploi. Contient de l'acide sulfurique 1M.
1 flacon, 15 ml
10. **couvercle de plaque**:
1 unité
11. **Notice d'emploi**:
1

Coffret de 192 déterminations

Référence: B 181- 01M Réf. en France: SAV 181 192

1. **2 plaques** de 12 barrettes de 8 puits sécables recouverts de peptides de synthèse spécifique de *C. trachomatis*. Chaque plaque est conditionnée dans un sachet aluminium contenant un agent déshydratant.
2 plaques
2. **Tampon de lavage concentré (20x)**: Un PBS-Tween Tampon.
2 flacons, 100 ml chacun

3. **Diluant des sérum (Bleu):** Prêt à l'emploi. Contient du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 60 ml
4. **Diluant du conjugué (Vert):** Prêt à l'emploi. Contient du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 80 ml
5. **Contrôle négatif:** Sérum humain négatif pour l'anticorps IgG anti-Chlamydia trachomatis.
Prêt à l'emploi. Contient de l'azide de sodium <0.1% et du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 2.4 ml
6. **Contrôle positif:** Sérum humain positif pour l'anticorps IgG anti-Chlamydia trachomatis., Prêt à l'emploi. Contient de l'azide de sodium <0.1% et du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 1.25 ml
7. **HRP-Conjugué concentré (300x):** anti-IgG humaine (spécifique de la chaîne χ) couplée à la peroxydase. Contient du proclin <0.05% comme agent conservateur.
1 flacon, 0.2 ml
8. **Substrat/Chromogène:** 3,3',5,5', Tétraméthylbenzidine comme chromogène et peroxide comme substrat. Prêt à l'emploi.
1 flacon, 24 ml
9. **Solution d'arrêt:** Prête à l'emploi. Contient de l'acide sulfurique 1M.
1 flacon, 30 ml
10. **couvercle de plaque:** 2 unités
11. **Notice d'emploi:** 1

Matériel nécessaire mais non fourni:

1. Tubes à essais et portoirs pour préparer les dilutions des sérums de patients.
2. Flacon en plastique pour la dilution du HRP-conjugué anti-humaine IgG.
3. Micropipettes ou pipettes multi-canaux (5-50, 50-200 et 200-1000 μ l) avec embouts jetables.
4. Tube volumétrique de 1 litre.
5. Une fiole jaugée de 50ml.
6. Bouteille pour la solution de lavage.
7. Papier absorbant
8. Agitateur vortex.
9. Bain-Marie à 37°C, ou une chambre humide placée dans un incubateur à 37°C.
10. Lecteur ELISA équipé d'un filtre à 450nm.
11. Eau distillée en bouteille.

Précautions D'emploi

Usage Diagnostique IN VITRO

1. Ce kit contient des sérums humains qui ont été testés par des techniques approuvées par la FDA, et CE –Ils ont été trouvés dépourvus d'antigène HBs,d'ac

VIH 1 et 2, et anti HCV, comme aucune technique ne peut garantir l'innocuité absolue des matériels testés, ceux-ci doivent donc être manipulés comme potentiellement infectieux- selon les recommandations publiées dans le manuel "Sécurité biologique dans les laboratoires de microbiologie et de biologie médicale, 1988" de CDC/NIH (National Institute of Health - Institut National de la Santé américain).

2. La solution de substrat TMB est une substance irritante pour la peau et les muqueuses. Eviter tout contact direct.
3. L'acide sulfurique dilué (1M) est un agent irritant pour les yeux et la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. Ne jamais verser de l'eau dans ce produit. En cas d'accident ou de malaise consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).
4. Tous les composants de la trousse ont été testés par lot. Ne pas mélanger les composants de différents lots et ne pas utiliser d'éléments provenant d'autres fournisseurs.

Conservation et Stabilité des Réactifs

1. Tous les composants de la trousse doivent être conservés entre 2- 8°C. Dans ces conditions, les réactifs non ouverts sont stables jusqu' à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. L'exposition des composants, munis de leur bouchon d'origine ou scellés, à la température ambiante durant quelques heures, ne peut pas endommager les réactifs. **NE PAS CONGELER!**
2. Une fois le coffret ouvert, les éléments se conservent pendant 90 jours.
3. Le sachet d'aluminium contenant les barrettes doit être soigneusement refermé sans oublier le sachet déshydratant.
4. Diluer le tampon de lavage concentré au 1/20 dans l'eau distillée.
Exemple: pour une barrette, préparer 100ml de tampon de lavage (5ml de tampon de lavage concentré + 95ml d'eau distillée). La solution reconstituée est stable 21 jours à 2-8°C.

Prélèvement des échantillons

Recueillir les échantillons de sérum en respectant l'asepsie. Ne pas utiliser de sérums inactivés par la chaleur.

Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums présentant une lipémie ou troubles. Les particules et les précipités contenus dans le sérum peuvent fausser les résultats. De tels échantillons doivent être clarifiés par centrifugation ou filtrage avant analyse.

Conservation:

Les échantillons à tester peuvent être conservés 7 jours à 2-8°C (rajouter de l'azide de sodium 0.1%). Si le dosage est prévu dans un délai plus long, conserver les prélèvements à -20°C. Il est recommandé de ne pas effectuer des décongélations successives, pour cela fractionner le sérum en plusieurs aliquots.

Réalisation du test - Manuelle

Procédure sur automate disponible sur demande.

A. Préparation des Réactifs

1. Ramener tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Bien mélanger le

- contrôle positif, contrôle négatif et les échantillons à tester.
- Déterminer le nombre total d'échantillons à analyser. Outre les échantillons, inclure les réactifs suivants dans chaque analyse: deux puits de contrôle négatif et un puits de contrôle positif.
 - Retirer la plaque de micro-titration de son sachet d'aluminium en coupant l'extrémité du sachet près de la partie scellée. Laisser le nombre de barrettes voulues dans le portoir de 96 puits.
 - Diluer le tampon de lavage concentré au 1/20 dans l'eau distillée.
Exemple : pour une barrette, préparer 100 ml de tampon de lavage (5ml de tampon de lavage concentré + 95ml d'eau distillée).

B. Incubation des échantillons et des contrôles

- Diluer les sérums de patients au 1/21 de la manière suivante: ajouter 10µl de sérum de patient à 200µl de diluant des sérums.
- Déposer 50µl de contrôle positif, 2 contrôles négatifs et les échantillons dilués au 1/21 selon le schéma de dépôt. **Le contrôle négatif doit être déposé dans deux puits séparés.**
- Recouvrir les barrettes avec le couvercle de plaque et incuber pendant 1 heure à 37°C en chambre humide.
- Vider les puits.
- Etapes de lavage:** remplir, à ras-bord, chaque puit avec du liquide de lavage (300-350µl) puis éliminer ce liquide. Répéter encore deux fois, pour un total de trois étapes de lavage.
- Sécher les plaques et le portoir en les tamponnant sur du papier absorbant. Répéter cette opération trois fois.

C. Incubation du Conjugué

- HRP- conjugué anti-human IgG doit être dilué juste avant l'utilisation. Diluer le conjugué au 1/300 avec le diluant du conjugué. Exemple: pour deux barrettes, diluer 10µl de HRP-conjugué anti-human IgG concentré dans 3ml de diluant du conjugué.
- Déposer 50µl de conjugué dilué par puits.
- Recouvrir les barrettes avec le couvercle de plaque et incuber pendant 1 heure à 37°C en chambre humide.
- Vider les puits, les laver 3 fois et les sécher comme indiquer précédemment: étapes 9-10.

D. Incubation du TMB-Substrat/Chromogène

- Déposer 100µl de TMB-Substrat/Chromogène par puits. Recouvrir les barrettes avec le couvercle de plaque et incuber pendant **15 minutes** à température ambiante.
- Arrêter la réaction en ajoutant 100µl de solution d'arrêt (H₂SO₄) 1M par puits..

E. Lecture

17. Essuyer soigneusement le dessous de la plaque et lire à 450nm dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

Note: Eliminer les éventuelles bulles d'air présentes dans les cupules et essuyer soigneusement le dessous de la microplaque avant la lecture au spectrophotomètre.

Critères d'acceptabilité du test

Le test peut être validé d'après les conditions suivantes; Si ces conditions ne sont pas remplies, le test doit être refait.

- 1. Contrôle Positif:** La valeur d'absorbance du contrôle positif doit être ≥ 0.8 à 450 nm.
- 2. Contrôle Négatif:** La valeur d'absorbance du contrôle négatif effectué en double doit être $0.1 < NC \leq 0.4$ à 450nm.

Calcul de la valeur seuil (COV) et de l'index (COI)

La valeur seuil (COV) est calculée selon la formule suivante: **COV = NC x 2**

NC = Moyenne des absorbances du contrôle négatif passé en double exemplaire à 450nm.

Pour normaliser les résultats obtenus, nous vous conseillons de rendre les résultats en index (COI) en calculant tout simplement un ratio:

$$\text{COI} = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon à 450nm}}{\text{COV}}$$

Interprétation des Résultats

Table 1: Correlation entre l'absorbance à 450nm et la présence des anticorps IgG C. trachomatis

Absorbance à 450nm D.O	COI	Résultat	Interprétation des Résultats
$D.O < COV$	< 1.0	Négatif	Absence d'anticorps IgG anti-C. <i>trachomatis</i>
$COV \leq D.O \leq COV \times 1.1$	1-1.1	Limite	Résultats limites - Il est nécessaire d'effectuer l'analyse d'un deuxième échantillon après 14-21 jours (Si le deuxième échantillon est à nouveau limite, le résultat est considéré comme négatif).
$D.O > COV \times 1.1$	> 1.1	Positif	Présence d'anticorps IgG-anti C. <i>trachomatis</i> .

Table 2: Interprétation des résultats en fonction de la combinaison des anticorps IgG et IgA

Taux d'anticorps spécifiques de <i>C. trachomatis</i>		Interprétation des résultats
IgG	IgA	
Négatif	Négatif	Négatif (ou au-delà de la sensibilité de ce test)
Positif	Négatif ou limite	Peut indiquer une infection passée ou en cours.
Limite	Limite	Il est nécessaire d'effectuer l'analyse d'un deuxième échantillon après 14 -21 jours. Résultats limites répétés doivent être considérés comme résultats négatifs.
Positif	Positif	Peut indiquer une infection en cours, récente ou chronique
Négatif	Positif	Effectuer l'analyse d'un deuxième échantillon après 14-21 jours. L'obtention de résultats similaires peut indiquer une infection chronique ou aiguë.

Limites du Test

1. Un test sérologique seul, ne peut être utilisé comme unique critère de diagnostic. Toutes les données cliniques et biologiques, doivent être prises en considération.
2. Les échantillons prélevés trop tôt lors d'une primo-infection peuvent ne pas contenir d'anticorps décelables.
Si l'on soupçonne une infection à Chlamydiae, effectuer un deuxième prélèvement 14 à 21 jours plus tard et procéder à une nouvelle analyse.

Performances Caractéristiques du SeroCT™-IgG

Table 3: Sensibilité du SeroCT™ -IgG par rapport à la culture.

L'étude a été menée par un laboratoire de référence sur des patients chez qui la culture de *C. trachomatis* s'est avérée positive.

Culture Positive	SeroCT™-IgG	
	Positif	Negative
45	35	10

Sensibilité: $35/45 \times 100 = 78\%$

Table 4: Sensibilité et spécificité du test SeroCT™ - IgG comparé au test Microimmunofluorescence (MIF)

La population étudiée comprenait des patients avec des infections suspectées à *C. trachomatis*. SeroCT™ - IgG a été comparé au test Microimmunofluorescence (MIF) commercial.

MIF		SeroCT™ - IgG	
		Positif	Négatif
Positif	58	55	3
Négatif	50	5	45
Total	108	60	48

Sensibilité: $55/58 \times 100 = 95\%$

Spécificité: $45/50 \times 100 = 90\%$

Concordance: $100/108 \times 100 = 93\%$

Table 5: Spécificité du SeroCT™ IgG *Chlamydia trachomatis* pour différents groupes contrôles

Groupe testé	Nombre de sérum	SeroCT™- IgG négatif	Spécificité du SeroCT™- IgG-(%)
Donneurs de sang	250	230	92
Patients connus négatifs pour <i>C. trachomatis</i> et positif pour <i>C. pneumoniae</i> par MIF	35	33	94
Enfants sans pathologie	30	29	97
Femmes enceintes sans pathologie	30	28	93

Table 6: Spécificité du test SeroCT™ - IgG comparé à deux tests MIF différents.

La spécificité du test SeroCT™ - IgG a été déterminée en comparaison au test MIF dans deux études indépendantes, chacune d'entre elle utilisant un test MIF différent. Les échantillons de sérum employés pour chaque étude ont donné un résultat négatif au test de détection par la méthode MIF des anticorps spécifiques de *C. trachomatis* et de *C. pneumoniae* (MIF Ct- / Cp-) ou un résultat négatif concernant *C. trachomatis* et positif concernant *C. pneumoniae* (MIF Ct- / Cp+).

	MIF Ct- / Cp-	MIF Ct- / Cp+	Nég. au test SeroCT™ IgG	Spécificité du test SeroCT™ (%)
ETUDE 1 (Test MIF en interne)	0	64	58	91
ETUDE 2 SeroFIA (Savyon)	30	100	117	90

Précision

Intra- essai précision du SeroCT™ - IgG est montrée ci-dessous:

Echantillon	No. de détermination en double	Valeur moyennes	CV %
Positif	10	0.835	2.5
Négatif	10	0.149	8.8

Inter-essai précision du SeroCT™ - IgG est montrée ci-dessous:

Echantillon	No. de détermination en double	Valeur moyennes	CV %
Positif	10	0.902	2.9
Négatif	10	0.167	5.5

Bibliography

1. Sarov, I.B., Shemer, A.Y., Manor, E., Zvilich, M., Lunenfeld, E., Piura, B., Chaim, W and Hagay, Z. (1989). Current topics in Chlamydia trachomatis Research. In : Serio, M. (Ed). Perspectives in Andrology; Raven Press, New York, 53 : 355-366.
2. Grayston, J.T., Kuo, C.C., Wang, S.P. and Altman J. (1986). The new Chlamydia psittaci strain, TWAR, Isolated in acute respiratory tract infections. N. Engl. J. Med. 315 : 161-168.
3. Grayston, J. T., Kuo, C.C., Campbell, L.A. and Wang, S.P. (1989). Chlamydia pneumoniae sp. nov. for Chlamydia sp. strain TWAR. Int. J. Syst, Bacteriol. 39 : 88-90.
4. Fukushi, H. and Kirai, K. (1992). Proposal of Chlamydia pecorum sp. nov. for Chlamydia strains derived from ruminants. Int. J. Syst. Bacteriol. 42 : 306-308.
5. Stephens, R. S., Tam, M. R., Kuo, C. C. and Nowinski, R.C. (1982). Monoclonal antibodies to Chlamydia trachomatis: antibody specificities and antigen characterization. J. Immunol. 128 : 1083 -1089.
6. Stephens, R. S., Sanchez-Pescador, R., Wagar, E. A., Inouye, C. and Urdea, M. S. (1987). Diversity of Chlamydia trachomatis major outer membrane protein genes. J. Bacteriol. 169 : 3879-3885.
7. Yuan, Y., Zhang, Y. X., Watkins, N. G. and Caldwell, H.D. (1989). Nucleotide and Deduced Amino Acid Sequences for the Four variable Domains of the Major Outer Membrane Proteins of the 15 Chlamydia trachomatis Serovars. Infection and Immunity. 57 : 1040-1049. Copyright 1989, American Society for Microbiology.
8. Wang S. P., Kuo , C. C., Barnes , R. C., Stephens , E. S. and Grayston, J.T. (1985). Immunotyping of Chlamydia trachomatis with monoclonal antibodies. J. Infect Dis. 152: 791-800.
9. Treharne J. D. (1985). The community epidemiology of trachoma. Rev Infect Dis. 7 : 760-763.
10. Piura, B., Sarov, I., Sarov, B., Kleinman, D., Chaim W. and Insler, V. (1985). Serum IgG and IgA antibodies specific for Chlamydia trachomatis in salpingitis patients as determined by the immunoperoxidase assay. Eur. J. Epidemiol. 1 : 110-116.
11. Wang, S.P., Grayston, J.T., Kuo, C.C., Alexander, E.R. and Holmes, K.K. (1977). Serodiagnosis of Chlamydia trachomatis infection with the microimmunofluorescence test. In : Nongonococcal urethritis and related infection, D. Hobson and K.K. Holmes (Eds), P. American Society for Microbiology , Washington DC. p. 237-248.

12. Richard, L. S., Schachter, J. and Landers, D.V. z. (1983). Chlamydial Infections in Obstetrics and Gynecology. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 26 : 143
13. Thompson III S. E., and Dretler R. H. (1982). Epidemiology and Treatment of Chlamydial Infections in Pregnant Women and Infants. *Review of Infectious Diseases*. 4: S747
14. Mardh A., Ripa, T., Svensson, L. and Westrom, S. (1977). Chlamydia Trachomatis Infection in Patients with Acute Salpingitis. *Chlamydia Trachomatis and Acute Salpingitis*. *N. Engl. J. Med.* 296 : 1377-1379.
15. Grayston, J. T., Campbell, L. A., Kuo, C. C., Mordhorst, C.H., Saikku, P., Thom, D. H. and Wang, S. P. (1990). A new respiratory tract pathogen. *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *J. Infect. Dis.* 161 : 618-625.
16. Hahn, D. L., Dodge, R. W. and Golubjatnikow, R. (1991). Association of *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma. *JAMA* 266: 225-230.
17. Saikku P., Mattila, K., Nieminen, M. S., Huttunen, J.K., Leinonen, M., Ekman, M.R., Makela, P.H. and Valtonen, V. (1988). Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infection. *Lancet* II: 983-986.
18. Tsunekawa, T. and Kumamoto, Y. (1989). A study of IgA and IgG titers of *C. trachomatis* in serum and prostatic secretion in chronic prostatitis. *J. J A. Y. Inf. Dis.* 63 (2) : 130-137.
19. Kaneti, J. et al., (1988). IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in acute epididymitis. *Europ. Urol.* 14 : 323-327.
20. Sarov, I., Kleinman, D., Cevenini, R., Holcberg, G., Potashnik, G., Sarov, B. and Inslar. (1986). Specific IgG and IgA antibodies to *Chlamydia trachomatis* in infertile women. *Int. J. Fertil.* 31 (3) : 193-197.

M181-01F 05-09/13



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