Chlamydien-IgM-rELISA medac

Português

CE
0123

FABRICANTE

medac
Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Theaterstraße 6
D-22880 Wedel

www.medac-diagnostika.de
E-Mail: diagnostics@medac.de
Tel.: ++49/4103/8006-0
Fax: ++49/4103/8006-359

ENDERECO PARA ENCOMENDAS

E-Mail: auftrag@medac.de
Tel.: ++49/4103/8006-111
Fax: ++49/4103/8006-113

Chlamydien-IgM-rELISA medac

Imunoensaio enzimático recombinante para a detecção qualitativo de anticorpos IgM específicos para ao LPS chlamidial em soro e EDTA-plasma

Cat. no.: 485-TMB

APENAS PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO

INTRODUÇÃO

As chlamydiae são patogénios gram-negativos. Têm um ciclo de vida intracelular obrigatório nas mucosas e de acordo com dados recentes nas células endoteliais e células do músculo liso. Dependem de fosfatos ricos em energia das suas células hospedeiras e são, portanto, chamados parasitas de energia.

O género chlamydia compreende quatro espécies: ***C. pneumoniae***, ***C. psittaci***, ***C. pecorum*** e ***C. trachomatis***. A ***C. pneumoniae*** e ***C. trachomatis*** são patogénios humanos obrigatórios. ***C. psittaci*** é patogénico para o homem e uma variedade de espécies animais. Até agora ***C. pecorum*** apenas foi isolada de animais.

A ***Chlamydia trachomatis*** é um dos patogénios transmitidos por via sexual mais frequente em todo o mundo. Causa infecção do tracto urogenital e olho. Na maioria dos casos as infecções por ***C. trachomatis*** são assintomáticas. Daqui resulta uma variedade de doenças crónicas que são sustentadas pelos agentes ascendentes e persistentes. Os quadros clínicos incluem na mulher: endometrite, adnexite, periapendicite, perihepatite, e artrite reactiva. Como consequência de adnexite repetida os tubos fecham do que resulta esterilidade.
No homem os patogénios podem ascender para o epidímio (→epidimite) e para a próstata (→prostatite) após uma tratamento para uretrite incompleto ou mal sucedido. Nestes casos tem sido discutida uma redução na fertilidade. Conhece-se também artrite reactiva pós-uretritíca no homem.
Em recém-nascidos a ***C. trachomatis*** pode ser transferida durante o nascimento do canal infectado para o bebé e pode causar conjuntivite e/ou pneumonia neonatal.

As infecções por ***Chlamydia pneumoniae*** ocorrem em todo o mundo. Para além de sintomas tipo gripe, o quadro clínico inclui sinusite, faringite, bronquite, doença pulmonar obstrutiva crónica, pneumonia atípica, e artrite reactiva. Tem sido discutida uma relação causal de infecções na asma, sarcoidose, aterosclerose, enfarte agudo do

miocárdio, ataque de apoplexia esclerose múltipla e doença de Alzheimer tardia.

A ***Chlamydia psittaci*** infecta aves e mamíferos que podem transmitir o patógénio ao homem. As pneumonias severas resultantes podem conduzir a condições perigosas para a sobrevivência se não for iniciada uma rápida intervenção com antibióticos.

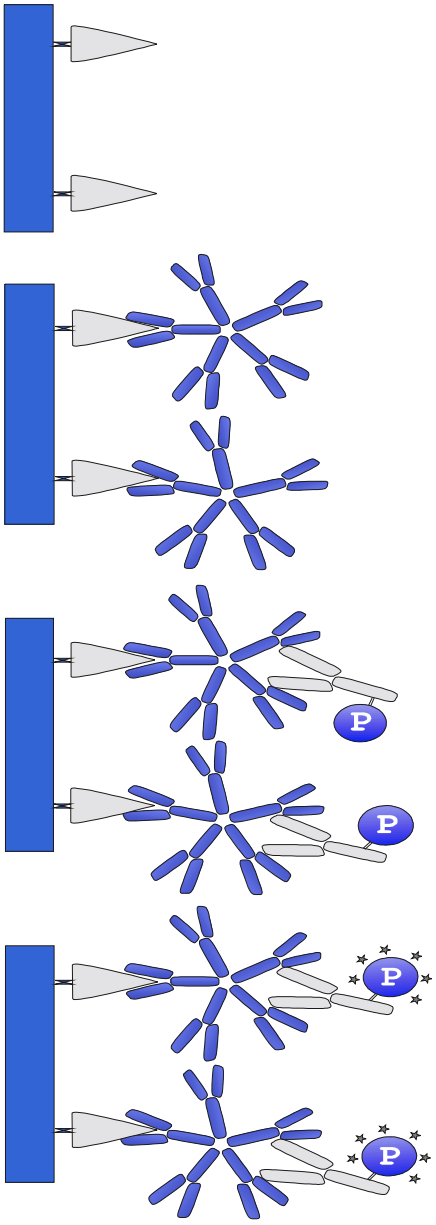
O diagnóstico das infecções por chlamidia reside na determinação dos antigénios e dos anticorpos. A detecção antigénica (IFA, ELISA, PCR) é importante para o diagnóstico das infecções periféricas. Em cursos ascendentes da doença a detecção do patogénio é limitada e deve ser completada com a serologia. Os métodos serológicos incluem o teste de fixação do complemento, IFA, MIF, ELISA específicos de género e de espécie.

As chlamydiae contêm como antigénio comum imunodominante o lipopolissacarídeo (LPS) contra o qual se dirige a primeira reacção imunitária. Os anticorpos correspondentes são já detectáveis alguns dias após a infecção e, assim, permitem um diagnóstico precoce. A utilização de pares de amostras permite a discriminação das infecções correntes, das reinfecções, das reactivações (aumento definido dos títulos) e das infecções crónicas persistentes (títulos constantes de anticorpos). Devido à persistência limitada dos anticorpos anti-LPS após erradicação bem sucedida do patogénio, o diagnóstico das infecções correntes não é evidentemente influenciada por infecções antigas.

Os Chlamydien-IgG-, IgA-, e IgM-rELISA medac baseiam-se num antigénio de estrutura molecular definida, produzido por tecnologia genética. Trata-se de um fragmento de LPS específico do género chlamydia que não foi encontrado em mais nenhum LPS bacteriano. A comparação de soros de dadores de sangue com soros de doentes com infecções genitais ou respiratórias devidas a chlamidia mostra que a presença de anticorpos anti-LPS chlamydia é detectada mais frequentemente nos doentes que nos dadores de sangue.

Como a reacção é específica de género, o resultado não vai diferenciar as espécies de chlamidia; no entanto, como o quadro clínico já vai orientar para a espécie de chlamidia suspeita e todas as chlamidias mostram uma sensibilidade equivalente aos antibióticos, a detecção do género não trará consequências.

PRINCÍPIO DO TESTE



A placa é revestida com fragmento recombinante LPS específico da chlamydia.

Os anticorpos da amostra específicos do LPS da chlamydia ligam-se ao antigénio.

Os anticorpos IgM anti-humanos conjugados à peroxidasa ligam-se aos anticorpos IgM (P = peroxidasa).

Incubação com TMB-substrato (*). A reacção é parada pela adição de ácido sulfúrico. A absorção é lida fotometricamente.

Vantagens do teste

- ☞ Antigénio específico da chlamydia, quimicamente definido.
- ☞ Adequado para automatização em aparelhos abertos.
- ☞ As tiras separáveis permitem uma utilização eficiente do teste.

CONTEÚDO DO KIT
Cat. no.: 485-TMB

1. **MTP**
   Microplaca: 12 x 8 poços (impresso com **CHM,** com suporte e dessecante selado no vácuo em saco de alumínio), separáveis , formato U, revestidos com fragmento LPS recombinante específico de chlamydia e NBCS, pronta a usar.

2. **CONTROL –**
   Controlo negativo: 1 frasco de 1,5 ml , soro humano, pronto a usar, azul, contém NBCS, fenol (0,09 %), ProClin™ 300 (< 0,0015 % CMIT/MIT)[1,2] e sulfato de gentamicina (0,005 %).

3. **CONTROL +**
   Controlo positivo: 1 frasco de 1,5 ml , soro humano, pronto a usar, azul, contém BSA, fenol (0,09 %), ProClin™ 300 (< 0,0015 % CMIT/MIT) [1,2] e sulfato de gentamicina (0,005 %).

4. **WB**
   Tampão de lavagem: 1 frasco de 100 ml, 0,1 M PBS/Tween (10x), pH 7,2 –7,4, contém ProClin™ 300 (0,017 % CMIT/MIT)[1].

5. **BAC-DIL**
   Diluente de amostra: 1 frasco de 110 ml, 0,01 M PBS/Tween/NBCS, pH 7,0 –7,2, pronto a usar, azul, contém ProClin™ 300 (0,008 % CMIT/MIT)[1] .

6. **CON**
   Conjugado: 3 frascos de 4,5 ml cada, IgM anti-humana de cabra conjugada a HRP, pronto a usar, vermelho, contém BSA, fenol (0,09 %), ProClin™ 300 (< 0,0015 % CMIT/MIT)[1,2] e sulfato de gentamicina (0,005 %).

7. **TMB**
   TMB-substrato: 1 frasco de 10 ml, pronto a usar.

8. **STOP**
   Solução stop: 2 frascos de 11 ml cada, ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,5 M, pronto a usar.
   Pode ser corrosivo para os metais.

9. **RF-ABS**
   Absorvente IgG/Rf: 1 frasco de 4 ml, anticorpos de cabra, anti-IgG humana, pronto a usar, contém de azida sódica (0,025 %).

[1] Mistura de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazole-3-ona y 2-metil-2H-isotiazole-3-ona (3:1).

[2] Pode provocar uma reacção alérgica. Ficha de segurança fornecida a pedido (ver CD-ROM).

1. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Material/Reagente	Estado	Armazenamento	Estabilidade
Kit	fechado	2...8 °C	prazo de validade
Microplaca	aberta	2...8 °C no saco com dessecante	6 semanas
Controlos	abertos	2...8 °C	6 semanas
Tampão de lavagem	diluído	2...8 °C	6 semanas
Diluente de amostra	aberto	2...8 °C	6 semanas
Conjugado	aberto	2...8 °C	6 semanas
TMB-substrato	aberto	2...8 °C	6 semanas
Solução stop	aberta	2...8 °C	prazo de validade
Absorvente IgG/Rf	aberto	2...8 °C	6 semanas

Não utilizar os reagentes após a data do prazo de validade.

2. REAGENTES E MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

2.1. Água destilada ou desionizada.

2.2. Micropipetas ajustáveis.

2.3. Recipientes de vidro ou plástico para a diluição do tampão de lavagem e amostras

2.4. Dispositivo adequado para a lavagem da microplaca (multipipeta ou lavador ELISA).

2.5. Incubadora de 37 °C.

2.6. Leitor com filtros para 450 nm e 620 – 650 nm.

3. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Antes de iniciar o teste os reagentes devem ser colocados à temperatura ambiente (TA).

Calcular o número de poços necessários.

3.1. Microplaca

Após cada remoção de poços o saco de alumínio tem de ser bem fechado juntamente com o dessecante. As condições de armazenamento e estabilidade dos poços estão indicadas sob ponto 1.

3.2. Tampão de lavagem

Misturar um volume de tampão de lavagem (10x) com nove volumes de água destilada/desionisada (p.ex. 50ml de tampão de lavagem (10x) com 450ml de água). São necessários 10 ml de tampão de lavagem diluído para oito poços.

Os cristais no tampão de lavagem (10x) têm de ser dissolvidos aquecendo (máx. 37 °C) e/ou agitando à temperatura ambiente.

Não misturar reagentes específicos do teste (microplaca, controlos, conjugado) de diferentes lotes. Por seu lado, o diluente de amostra, tampão de lavagem, substrato TMB, absorvente IgG/Rf e solução de paragem são reagentes que geralmente se podem trocar entre todos os kits ELISA Chlamydia e Mycoplasma da medac.

Em geral, não se devem utilizar reagentes de outros fabricantes.

Apenas se obtêm resultados válidos e reprodutíveis quando o procedimento é rigorosamente seguido

4. AMOSTRA

4.1. O teste é adequado para soro e EDTA-plasma. As amostras dos doentes podem ser armazenadas durante 7 dias a 2-8 °C. Armazenagem a longo prazo deve ser feita a ≤ -20 °C. Descongelação e congelação repetida das amostras tem de ser evitada.

4.2. Não é necessário pretratamento adicional do amostras , como p.ex. inactivação. Contudo, este não deve estar contaminado com microorganismos nem conter glóbulos vermelhos.

4.3. As amostras têm uma diluição final de 1:50 após absorção com IgG/Rf (ver 5.A.).

5. PROCEDIMENTO

5.A. ABSORÇÃO IGG/RF

Atenção:

* **Os controlos estão prontos a usar (não é necessária absorção).**
* **Os volumes a seguir indicados aplicam-se apenas para determinações individuais.**

5.A.1. Amostra: 10 µl de amostra são diluídos com 240 µl diluente de amostra (diluição 1:25).

5.A.2. Absorção: misturam-se 30 µl de absorvente IgG/Rf e 30 µl de amostra diluída (diluição 1:50) e incuba-se 15 min à temperatura ambiente.

Alternativa: A absorção pode ser feita durante a noite a 2 – 8 °C.

5.A.3. A diluição teste é agora 1:50.

5.B. PROCEDIMENTO DO TESTE

5.B.1. Cortar o saco de alumínio e retirar o número de poços necessários (ver 3.1.)

Os poços da microplaca estão prontos a usar e não têm de ser pré-lavados.

5.B.2. Pipetar 50 µl de diluente de amostra no poço A1 para branco (ver 6.A.). Adicionar 50 µl de controlo negativo em duplicado e respectivamente 50 µl de controlo positivo e de amostra diluída, para determinação individual.

Se necessário os poços da microplaca podem ser mantidos numa câmara húmida até 30 minutos a 2 – 8 °C antes de prosseguir o teste.

5.B.3. Incubar a microplaca 60 minutos (± 5 min) a 37 °C (± 1 °C) numa câmara húmida ou selada com o selo.

5.B.4. Após a incubação, lavar a microplaca 3 vezes com 200 µl de tampão de lavagem por poço. Ter atenção para que todos os poços estejam preenchidos. Após a lavagem absorver em papel de filtro.

Não deixar secar os poços! Continuar o teste imediatamente!

5.B.5. Adicionar conjugado (cor vermelha) a cada poço.

Se o teste for feito manualmente têm de ser pipetados 50 µl de conjugado.

Nota:
Se o teste for feito em sistema automático têm de ser pipetados 60 µl de conjugadodevido à maior evaporação nas câmaras húmidas dos instrumentos.

A adequação principal do teste para automatização pode ser demostrada durante a validação. Contudo, recomenda-se verificar a compatibilidade com o aparelho utilizado

5.B.6. Incubar a microplaca 60 minutos (± 5 min) a 37 °C (± 1 °C) numa câmara húmida ou selada com o selo.

5.B.7. Após incubação lavar novamente os poços (ver 5.B.4.).

5.B.8. Adicionar 50 µl de TMB-substrato a todos os poços e incuba 30 minutos (± 2 min) a 37 °C (± 1 °C) numa câmara húmida ou selados e no escuro. As amostras positivas ficam azuis.

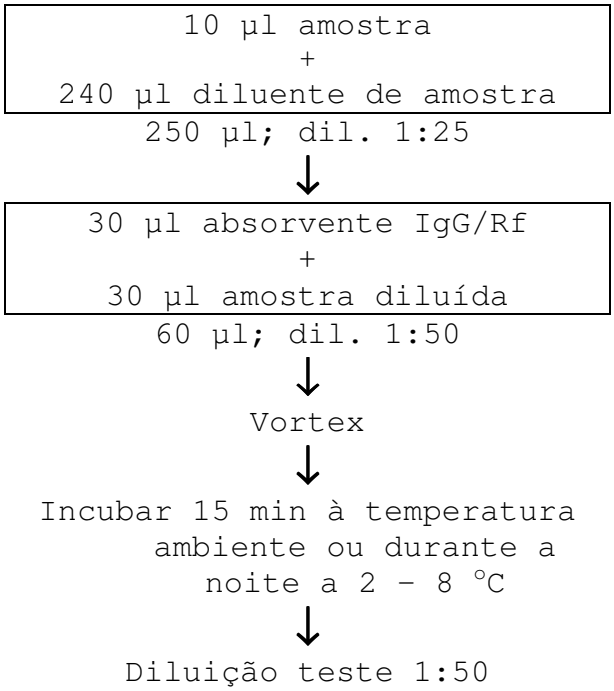
5.B.9. Parar a reacção adicionando 100 µl de solução stop a cada poço. As amostras positivas ficam amarelas.

Limpar os poços por baixo antes da leitura fotometrica e ter atenção para que não hajam bolhas de ar nos poços!

A leitura deve ser efectuada até 15 minutos após a adição da solução stop.

5.C. TABELA PARA A ABSORÇAÕ IgG/Rf

Indicação por determinação



5.D. TABELA PARA O PROCEDIMENTO

	Branco (A1)	Controlo negativo	Controlo positivo	Amostra
Diluente de amostra	50 µl	–	–	–
Controlo negativo	–	50 µl	–	–
Controlo positivo	–	–	50 µl	–
Amostra	–	–	–	50 µl
Incubar 60 minutos a 37 °C, lavar 3 x com 200 µl de tampão de lavagem				
Conjugado	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)
Incubar 60 minutos a 37 °C, lavar 3 × com 200 µl de tampão de lavagem				
TMB-substrato	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Incubar 30 minutos a 37 °C no escuro				
Solução stop	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Leitura fotometrica 450 nm (ref. 620 – 650 nm)				

*) procedimento manual/automático (ver 5.5.)

6.A. CALCULO DOS RESULTADOS (VALIDAÇÃO)

* Ler os valores de D.O. a 450 nm (ref. 620 – 650 nm).
* Subtrair o valor de D.O. do branco (poço A1) de todos os outros valores de D.O.
* O valor médio de D.O. do branco tem de ser **< 0,100.**
* O valor médio de D.O. para o **controlo negativo** tem de ser **< 0,200.**
* O valor médio de D.O. para o **controlo positivo** tem de ser **> 0,800.**
* **Cut-off = valor médio de D.O. do controlo negativo + 0,370**
* **Zona cinzenta = Cut-off ± 15 %**

Repetir o ensaio se os resultados não estiverem dentro das especificações.

6.B. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS:

6.B.1. QUALITATIVO

Resultado	Avaliação
D.O. < zona cinzenta	negativo
D.O. do Cut-off ± 15%	equivoco
D.O. > zona cinzenta	positivo

6.B.2. QUANTITATIVO

Com este teste as amostras têm de ser titulados se se desejar uma determinação do título final.

6.C. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

6.C.1. CRITÉRIOS PARA AUMENTOS SIGNIFICATIVOS DE TÍTULO

Para o diagnóstico de infecções correntes, actuais reinfecções, reactivações (aumentos significativos de título) e para a dissociação de infecções persistentes (títulos constantes de anticorpos) recomendamos a utilização de pares de amostras. Devem ser obtidos com diferença de 10 – 14 dias.

O seguinte critério foi descrito como uma possibilidade para o acompanhamento de aumentos significativos de título (Persson et al., Verkooyen et al.):

Triplicação, ou mais, dos títulos de anticorpos
IgG **ou** IgA específicos
ou
duplicação, ou mais, dos títulos de anticorpos
IgG **e** IgA específicos
ou
duplicação, ou mais, dos títulos de anticorpos
IgM específicos

6.C.2. INTERPRETAÇÃO ESPECÍFICA IgM

Resultados possiveis	Interpretação
+	Indicação de infecção aguda.
+/-	Possibilidade de um estádio muito precoce de infecção aguda ou recente. Retestar IgM após 10 - 14 dias e testar para IgA e IgG
-	Em casos de suspeita clínica justificada testar para IgA e IgG.

* Os resultados IgM devem ser sempre interpretados em conjunção com IgG e/ou IgA, quadro clínico e parâmetros adicionais de diagnóstico.

* As amostras com valores de DO dentro da zona cinzenta devem ser retestados juntamente com uma amostra fresca recolhida após 14 dias para determinar uma alteração de título.

* Elevados concentração de hemoglobina e bilirrubina não influenciam os resultados.

* Elevadas concentrações de lípidos podem influenciar os resultados do teste.

* Em casos individuais, não se pode excluir reactividade cruzada com anticorpos para o Parvovirus B19.

Comentário:
Em casos de infecções chlamidiais agudas recentes os resultados serológicos podem ser negativos apesar do quadro clínico e resultadso de detecção de antigénio positivos. Se se desejar uma confirmação serológica de um resultado antigénico positivo ou se se desejar um follow-up recomenda-se testar após 10 - 14 dias para serconversão.

7. CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

Foram determinadas as seguintes características de performance durante a avaliação diagnóstica.

7.A. PREVALÊNCIA

Para a **determinação da prevalência de anticorpos LPS** foram estudados soros de vários grupos de doentes (cultura positiva, pacientes negativos para DST, prostitutas, mulheres estéreis, homens estéreis, doentes com doenças reumáticas, com doenças respiratórias obstrutivas crónicas), e controlos (mulheres grávidas, 2 grupos de dadores de sangue).

Grupos	**Prevalência**		
	IgG	**IgA**	**IgM**
Doentes DST com cultura positiva (estudos internos medac)	**67 % (88/132)**	**56 % (74/132)**	**14 % (18/132)**
Doentes DST com cultura negativa (estudos internos medac)	**33 % (41/125)**	**13 % (16/125)**	**2 % (3/125)**
Prostitutas (Schmitz et al.)	**86 % (255/295)**	**48 % (141/295)**	**21 % (63/295)**
Mulheres estéreis (Schmitz et al.)	**75 % (62/83)**	**45 % (37/83)**	**10 % (8/83)**
Homens estéreis (Schmitz et al.)	**71 % (144/203)**	**35 % (71/203)**	**9 % (18/203)**
Doentes com doenças reumáticas (estudos internos medac)	**83 % (158/191)**	**63 % (120/191)**	**7 % (13/191)**
Doentes COPD (Verkooyen et al. 1997)	**53 % (144/271)**	**32 % (88/271)**	**3 % (9/271)**
Mulheres grávidas (estudos internos medac)	**32 % (62/192)**	**17 % (32/192)**	**8 % (16/192)**
Grupo dador de sangue 1 (Verkooyen et al. 1998)	**29 % (325/1104)**	**n.d.***	**n.d.***
Grupo dador de sangue 2 (estudos internos medac)	**37 % (154/416)**	**13 % (54/416)**	**3 % (6/240)**

*: n.d. = não determinado

7.B. PRECISÃO

Amostra	Variação intra-ensaio				Amostra	Variação inter-ensaio (n = 11)		
	Ø DO	SD	CV (%)	n		Ø OD	SD	CV (%)
CN	0,046	0,003	6	24	**CN**	0,041	0,003	7
CPF	0,639	0,017	3	24	**CPF**	0,601	0,026	4
CP	1,534	0,040	3	24	**CP**	1,439	0,059	4
Nº 1	0,446	0,018	4	24	**Nº 3**	0,421	0,030	7
Nº 2	0,986	0,030	3	24	**Nº 4**	1,005	0.055	5

CN = controlo negativo; CPF = controlo positivo fraco (não incluído no kit); CP = controlo positivo

CONSELHOS GERAIS DE MANIPULAÇÃO

* Para evitar contaminação cruzada não trocar os frascos e as suas tampas.
* Os reagentes têm de ser fechados imediatamente após utilização para evitar evaporação e contaminação microbiana.
* Após utilização, os reagentes têm de ser armazenados como indicado para garantir a validade.
* Após utilização todos os componentes do kit devem ser armazenados nos recipientes originais para evitar a mistura com reagentes de outros testes ou lotes (ver também 3.).

INFORMAÇÃO SOBRE SAÚDE E HIGIENE

* Os regulamentos de segurança e saúde locais têm de ser tidos em conta.
* Os reagentes de origem humana foram testados e considerados negativos para HBsAg, para anticorpos HIV-1/2 e para HCV. Contudo, recomenda-se que estes materiais, bem como os de origem animal (ver conteúdo do kit), devem ser manipulados como potencialmente infecciosos e utilizados com todas as precauções necessárias.

CONSIDERAÇÕES DE ELIMINAÇÃO

Os resíduos de químicos e preparações são geralmente considerados como desperdício contaminante. A eliminação deste tipo de desperdício é regulada através de leis e regulamentos nacionais e regionais. Contactar as autoridades locais ou companhias de gestão de lixos para saber procedimentos a tomar.

Data da revisão: 01.04.2018

BIBLIOGRAFIA

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.: Occurence of antibodies against chlamydial lipopolysaccharide in human sera as measured by ELISA using an artifical 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., Gnarpe, J., Gnarpe, 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., Cappucio, 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. Societá 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., Societá 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).