Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA 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

Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA medac

Imunoensaio enzimático para a detecção de anticorpos IgA anti-***Chlamydia trachomatis*** em soro, plasma e fluido seminal

Cat. no.: 498-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 ***C. trachomatis*** é um dos agentes causadores de infecções sexualmente transmissíveis do tracto urogenital e olho mais frequentes. Durante o parto pode ser transferido para o bebe e causa conjuntivite e pneumonia neonatal.

A ***C. trachomatis*** está subdividida em 19 serogrupos que causam diferentes manifestações clínicas. Os serogrupos A-C são responsáveis por tracoma endémico,que pode conduzir a cegueira. Afecta centenas de milhões de pessoas em países em desenvolvimento. O linfogranuloma venéreo, uma doença sexual tropical, é o resultado de infecções com os serogrupos L_1-L_3. Em países industrializados os serogrupos D-K são a causa mais comum de doenças oculo-genitais sexualmente transmissíveis.

A maioria das infecções ***C. trachomatis*** nas mulheres são assintomáticas. Daqui resultam muitas doenças crónicas. O local inicial da infecção é geralmente o cervix com manifestação clínica de cervicite. A Uretrite é menos comum nas mulheres. Entre a infecção primária e o aparecimento das sequelas frequentemente passam meses ou anos.

As manifestações assintomáticas ***C. trachomatis*** podem conduzir à endometrite, adnexite, periapendicite, perihepatite, peritonite e artrite reactiva. Este tipo da artrite é sabido igualmente nos homens como a artrite reactiva após uretrite.
Adnexite repetida pode frequentemente conduzir à infertilidade. Nos homens infecções ascendentes após uretrite assintomática podem resultar em epidimite e prostatite. O correspondente processo inflamatório pode influenciar a motilidade do espermatozoide de forma negativa do que resulta uma fertilidade diminuída.

Os patogénios ***C. trachomatis*** periféricos podem ser detectados com elevada sensibilidade e especificidade por métodos laboratoriais como ELISA, IF, PCR, LCR. Estes dois últimos altamente sensíveis métodos são usados também para a detecção de patogénios em ejaculados. A presença de inibidores PCR/LCR leva frequentemente a resultados falso-negativos. O clássico isolamento dos patogénios de culturas celulares é problemático devido a substâncias tóxicas no sémen do que resultam também resultados falso-negativos.

Uma possibilidade de ultrapassar estas dificuldades é baseada na detecção de IgA secretória contra ***C. trachomatis*** em fluido seminal. Na primeira resposta imune a mucosa genital produz IgA secretória específica de ***C. trachomatis***.
Em vários casos IgA secretória é a única manifestação de resposta imune indicando um processo restrito localmente. Adicionalmente, anticorpos séricos detectáveis reflectem uma já disseminação sistémica da infecção.

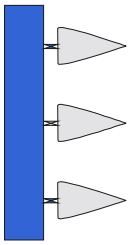
A chlamydia contém antigénios imunodominantes comuns como o LPS. Para efectuar uma serologia específica de espécie para a ***C. trachomatis*** são necessárias estruturas imunogénicas específicas. Estas estruturas estão localizadas nos domínios variáveis da proteína membranar externa principal (MOMP).

Até agora o teste de microimunofluorescência (MIF) é considerado o „gold standard" da serologia específica de espécie. Os antigénios MIF consistem de corpos elementares totais purificados e fixados. Assim não se pode excluir a reactividade cruzada entre espécies.

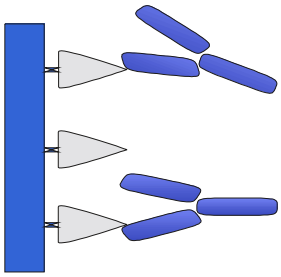
O teste **Chlamydia trachomatis-pELISA medac** utiliza um péptido sintético da região imunodominante do MOMP. Com este antigénio altamente específico é possível fazer uma descriminação entre anticorpos específicos de ***C. trachomatis*** com elevada especificidade.

Em infecções com uma evolução crónica a serologia é o método de escolha. Aqui, a detecção de anticorpos IgA em combinação com anticorpos IgG desempenha um papel decisivo. A serologia também é indicada como método adicional para o diagnóstico de infecções ***C. trachomatis*** periférica s e para seguimento pós-tratamento.

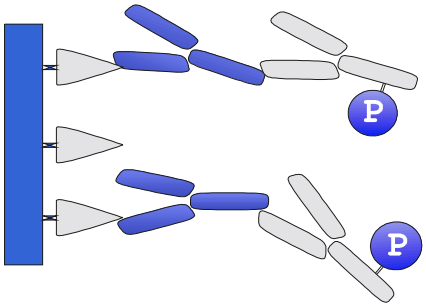
PRINCÌPIO DO TESTE



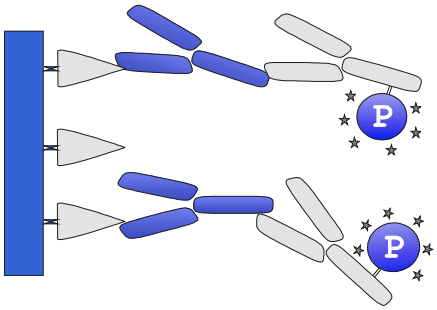
A placa é revestida com péptido sintético para ***C. trachomatis***.



Os anticorpos da amostra específicos de ***C. trachomatis*** ligam-se ao antigéno.



Os anticorpos anti-IgA humanos conjugados á peroxidase ligam-se aos anticorpos IgA (P = peroxidasa).



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

Vantages do teste

- ☞ Ausencia de resultados falso-positivos causados por reactividade cruzada com outras chlamydiae.
- ☞ Antigénio nao infeccioso.
- ☞ Estrutura do antigénio quimicamente definida.
- ☞ As tiras separáveis permitem uma utilização eficiente.

CONTEÚDO DO KIT
Cat. no.: 498-TMB

1. **MTP**

   Microplaca: 12 × 8 poços separáveis, (impresso com **CTA**, com suporte e dessecante selado no vácuo em saco de alumínio), formato U, revestidos com peptídeo sintético específico de ***C. trachomatis*** e NCS, pronta a usar.

2. **CONTROL −**

   Controlo negativo: 1 frasco de 1,5 ml, soro humano, azul, pronto a usar, contém NCS, fenol, ProClin™ 300 e sulfato de gentamicina.

3. **CONTROL +**

   Controlo positivo: 1 frasco de 1,5 ml, soro humano, azul, pronto a usar, contém BSA, fenol, ProClin™ 300 e sulfato de gentamicina.

4. **WB**

   Tampão de lavagem: 1 frasco de 100 ml, PBS/Tween (10×), pH 7,2 – 7,4, contém ProClin™ 300.

5. **BAC-DIL**

   Diluente de amostras: 1 frasco de 110 ml, PBS/Tween/NCS, pH 7,0 – 7,2, pronto a usar, azul, contém ProClin™ 300.

6. **CON**

   Conjugado: 3 frascos de 4,5 ml cada, IgA anti-humana de cabra conjugada a HRP, pronto a usar, amarelo, contém BSA, fenol, ProClin™ 300 e sulfato de gentamicina.

7. **TMB**

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

8. **STOP**

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

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	12 semanas
Controlos	abertos	2...8 °C	12 semanas
Tampão de lavagem	diluído	2...8 °C	12 semanas
Diluente de amostra	aberto	2...8 °C	12 semanas
Conjugado	aberto	2...8 °C	12 semanas
TMB-substrato	aberto	2...8 °C	12 semanas
Solução stop	aberta	2...8 °C	prazo de validade

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 adjustáveis.

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

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

2.5. Incubadora de 37 °C.

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

3. PREPARAÇAO DOS REAGENTES

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

Calcular o número de poços necessários.

3.1. Microplaca
O saco de alumínio tem de ser bem fechado juntamente com o dessecante após cada remoção de poços. As condições de armazenamento e estabilidade dos poços estao 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. 50 ml de tampão de lavagem (10x) em 450 ml de água). São necessários 10 ml de tampão de lavagem diluído para 8 poços.

Os cristais no tampão de lavagem (10x) têm 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 e solução stop são reagentes que geralmente se podem trocar entre todos os kits ELISA medac 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, EDTA-plasma e fluido seminal. 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 prétratamento das amostras, p.ex. inactivação. Contudo não devem esta contaminados com microorganismos nem conter glóbulos vermelhos.

4.3. Os soros e EDTA-plasma têm de ser diluídas 1:50 com diluente de amostras. Podem ainda ser diluídas para determinação de título.

4.4. O ejaculado tem de ser centrifugado durante 15 minutos a 600 xg. O sobrenadante (fluido seminal) é processado para o teste.

4.5. O fluido seminal é diluído 1:10 com diluente de amostra.

5.A. PROCEDIMENTO

5.1. 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 prélavados.

5.2. Pipetar 50 µl de diluente de amostras no poço A1 para branco (ver 6.A.), e 50 µl de controlo negativo (em duplicado), controlo positivo e amostras diluídas.

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

5.4. Lavar a microplaca 3 vezes com 200 µl de tampão de lavagem por poço. Ter atenção para que todos os poços estejam preenchidos. Após lavagem absorber em papel de filtro.

Não deixar secar os poços! Continuar o teste imediatamente!

5.5. Adicionar conjugado (cor amarelo) 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 conjugado devido à maior evaporação nas câmaras húmidas dos instrumentos.

A adequação do teste para aparelhos automáticos foi confirmada durante a avaliação do teste. Contudo, recomenda-se a verificação da compatibilidade do teste com o aparaelho utilizado no laboratório.

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

5.7. Apos incubao lavar novamente os pocos (ver 5.4.).

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

5.9. 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.B. 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 x 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 a 450 nm (ref. 620 – 650)				

*) procedimento manual/automatico (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 de D.O. do branco tem de ser **< 0,100.**
* O valor médio de D.O. para o **controlo negativo** tem de ser **< 0,100.**
* O valor de D.O. para o **controlo positivo** tem de ser **> 0,800.**

Cut-off do soro e EDTA-plasma

* **Cut-off = valor médio da D.O. do controlo negativo + 0,270**
* **Zona cinzenta = Cut-off ± 10 %**

Cut-off do fluido seminal

* **Cut-off = valor médio da D.O. do controlo negativo + 0,050**
* **Zona cinzenta = Cut-off ± 10 %**

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

6.B. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

6.B.1.QUALITATIVO

Resultado	Interpretação
D.O. < Zona cinzenta	negativo
D.O. Cut-off ± 10 %	equívoco
D.O. > Zona cinzenta	positivo

6.B.2.SEMIQUANTITATIVO

Index Cut-off: $\frac{\text{D.O. amostra}}{\text{D.O. Cut-off}}$	Interpretação
< 0,9	negativo
0,9 – 1,1	equívoco
> 1,1	positivo

* Amostras com valores de D.O. na zona cinzenta devem ser retestados juntamente com uma amostra fresca obtida 14 dias mais tarde para determinação da alteração de título.

* Os resultados devem sempre ser interpretados em conjunto com IgG e dados clínicos e parâmetros adicionais de diagnóstico.

* Elevadas concentrações de hemoglobina, bilirubina e lípidos não influenciam os resultados.

6.C. INTERPRETAÇÃO IgG/IgA ESPICIFICA PARA SEROLOGIA

Resultados possíveis IgG	IgA	Interpretação
+	+	Indicação de infecção. Ter atenção a sintomas e evolução do título.
+	–	Indicação de uma infecção passada. Em caso de suspeita clínica determinar o aumento do título IgG entre 2 amostras e retestar IgA.
+	+/–	Possibilidade de uma infecção fresca ou desvanescenda; retestar IgG e IgA após 10 – 14 dias.
+/–	–	Não se pode excluir indicação da uma infecção passada. Em caso de suspeita clínica retestar IgG e IgA após 10 – 14 dias.
–	+	Possibilidade de uma fase muito inicial da infecção ou IgA persistente; retestar IgG e IgA após 10 – 14 dias.
–	+/–	Possibilidade de uma fase muito inicial da uma infecção; retestar IgG e IgA após 10 – 14 dias.
+/–	+	Possibilidade de fase inicial de uma infecção; retestar IgG e IgA após 10 – 14 dias.
–	–	Não indicação serologica de uma infecção. Em casos de suspeita clínica deve ser feita a detecção directa do antigénio e devem-se restestar as IgG e IgA após 10 – 14 dias.

Comentário:
Em casos de infecções agudas muito recentes por chlamydia os resultados serológicos podem ser negativos apesar dos sintomas clínicos e da detecção de antigénio positiva. Para uma confirmação serológica de um resultado antigénio positivo ou para um follow-up recomenda-se efectuar o teste 10 – 14 dias após seroconversão.

6.D. INTERPRETAÇÃO IgA ESPICIFICA PARA FLUIDO SEMINAL

Resultados possíveis Soro/Plasma		F. seminal	Interpretação
IgG	**IgA**	**IgA**	
–	–	+	Indicação de uma infecção ***C. trachomatis***, localmente restrita.
–	+	+	Indicação de uma infecção ***C. trachomatis*** disse-minada inicial.
–	+	–	Iindicação de uma infecção ***C. trachomatis*** disseminada precoce ou IgA persistente isolada.
+	+	+	Indicação de uma infecção ***C. trachomatis*** disseminada.
+	–	+	Indicação de uma infecção ***C. trachomatis*** disseminada.
+	+	–	Indicação de uma infecção ***C. trachomatis*** disseminada avançada.
+	–	–	Indicação de uma infecção ***C. trachomatis*** passada.
–	–	–	Ausência de indicação serológica de uma infecção ***C. trachomatis.***

7. CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

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

7.A. ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE

Foram medidos soros de crianças < 10 anos e pacientes com infecção ***C. pneumoniae*** serologicamente provada (MIF) para **determinar a especificidade.**
Soros de três grupos diferentes de doentes foram testados para a **determinação da sensibilidade/prevalência.**

Grupo de doentes		**Especificidade**	
		IgA	**IgG**
Crianças < 10 anos		**98% (n=100)**	**99% (n=100)**
Doentes com infecção C. pneumoniae (MIF positivo)		**100% (n=47)**	**100% (n=47)**
		Sensibilidade/Prevalência	
Doentes DST negativos em cultura para *C.trachomatis*	***C.trachomatis*–pELISA**	**6,2% (n=112)**	**25,0% (n=96)**
	MIF	**3,6% (n=112)**	**27,1% (n=96)**
Doentes DST positivos em cultura para *C.trachomatis*	***C.trachomatis*–pELISA**	**24,6% (n=114)**	**65,1% (n=106)**
	MIF	**20,2% (n=114)**	**67,0% (n=106)**
Dadores de sangue	***C.trachomatis*–pELISA**	**6,4% (n=299)**	**15,1% (n=299)**
Doentes com artrite[1]	***C.trachomatis*–pELISA**	**41,0% (n=83)**	**48,2% (n=83)**

[1]Os soros foram pré-seleccionados de acordo com um resultado IgG positivo no kit rELISA específico de género.

7.B. PREVALÊNCIA

Para a **avaliação da prevalência** anticorpos IgA de ***C. trachomatis*** foram comparados no fluido seminal e correspondentes amostras séricas de dadores de semen (homens férteis) e homens com problemas de fertilidade.

	Prevalência *C. trachomatis* IgA* homens assintomáticos	
	Dadores de semen (n=116)	**Homens com problemas de fertilidade (n=171)**
Fluido Seminal	**9,5%****	**26,9%****
Soro	**5,2%**	**12,3%**

* Schuppe et al. 2000
** $p < 0,05$

Homens com problemas de fertilidade
Correlação entre soro IgA e fluido seminal IgA

		Fluido seminal IgA		
		+	**–**	
Soro IgA	**+**	**15**	**6**	**21 (12,3%)**
	–	**31**	**119**	
		46 (26,9%)		**171**

O título IgA no soro e fluido seminal não se correlacionam ($p < 0,001$).

7.C. PRECISÃO

Amostra	Variação intra-ensaio				Amostra	Variação inter-ensaio (n = 13)		
	D.O. média	SD	CV (%)	n		D.O. média	SD	CV (%)
CN	0,037	0,007	18,9	21	**CN**	0,029	0,003	10,3
CPF	0,336	0,015	4,5	21	**CPF**	0,314	0,025	8,0
CP	1,346	0,062	4,6	21	**CP**	1,262	0,069	5,5
Nº 1	0,144	0,014	9,7	21	**Nº 3**	0,112	0,009	8,0
Nº 2	0,818	0,050	6,1	24	**Nº 4**	0,633	0,048	7,6

CN = controlo negativo; CPF = controlo positive fraco (nao incluido 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 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: 01.04.2016

BIBLIOGRAFIA

Christiansen, G., Pedersen, L., Clausen, J.D., Birkelund, S.: Cell and molecular biology of Chlamydia. In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11.-14. September. pp. 3-6 (1996).

DeSchreyer, A., Meheus, A.: Epidemiology of sexually transmitted diseases: The global picture. Bull. World Health Organization 68, 639-654 (1990).

Hoyme, U.B., Spitzbart, H.: Past and current prevalence of ***Chlamydia trachomatis*** in women in Germany. In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria 11-14 September. p. 391 (1996).

Keck, C., Gerber-Schafer, C., Clad, A., Wilhelm, C., Breckwoldt, M.: Seminal tract infections: Impact on male fertility and treatment options. Hum. Reprod. Update 4, 891-903 (1998).

Köhler, M., Jendro, C. (1997): 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).

Nickel, J.C.: Chronic Prostatitis: An infectious disease? Infect. Urol. 13, 31-38 (2000).

Ochsendorf, F.R., Ozdemir, K., Rabenau, H., Fenner, T., Oremek, R., Milbradt, R., Doerr, H.W.: ***Chlamydia trachomatis*** and male infertility: Chlamydia-IgA antibodies in seminal plasma are ***C. trachomatis*** specific and associated with an inflammatory response. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 12, 143-152 (1999).

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, S.-C.: Detection of ***Chlamydia trachomatis*** in fallopian tube tissue in women with post-in-

fectious tubal infertility. Am. J. Obstet. Gynecol. 171, 95-101 (1994).

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

Petersen, E.E., Clad, A., Mendel, R., Prillwitz, J., Hintz, K.: Prevalence of chlamydial infections in Germany: Screening of asymptomatic women and men by testing first void urine by ligase chain reaction (LCR). In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11-14 September. p. 415 (1996).

Saikku, P.: Diagnosis of acute and chronic ***Chlamydia pneumoniae*** infections. In: Chlamydial Infections. Orfila, J., Byrne, G.I., Chernesky, M.A., Grayston, J.T., Jones, R.B., Ridgway, G.L., Saikku, P., Schachter, J., Stamm, W.E., Stephens, R.S. (eds.). Proceedings of the Eighth International Symposium on Human Chlamydial Infections, Chateau de Montvillargenne, 60270 Gouvieux-Chantilly, France, 19-24 June. p. 163-170 (1994).

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

Schachter, J.: Evolution of diagnostic tests for ***Chlamydia trachomatis*** infections. In: Chlamydia Research. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11-14 September. pp. 243-146 (1996).

Schuppe, H.C., Bispink, G., Peet, D.J., Propping, D.,Böttcher, M., Dettlaff, S.: The significance of antibodies against ***C. trachomatis*** in seminal plasma. IVth European Chlamydia Congress, 2000 Helsinki.

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).

Wolff, H.: The biologic significance of white blood cells in semen. Fertil. Steril. 63, 1143-1157 (1995).

Wolff, H., Neubert, U., Zebhauser, M., Bezold, G., Korting, H.C., Meurer, M.: ***Chlamydia trachomatis*** induces an inflammatory response in the male genital tract and is associated with altered semen quality. Fertil. Steril. 55, 1017-1019 (1991).

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