

RIDASCREEN® Chlamydia IgG/IgM

REF KGM3101



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Deutschland

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Zweckbestimmung

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDASCREEN® Chlamydia IgG/IgM Test ist ein Enzymimmunoassay zum Nachweis von IgG- oder IgM-Antikörpern gegen Chlamydia-Spezies in humanem Serum.

Die Tests sollten bei begründetem Verdacht auf eine Infektion mit Chlamydien oder zur Abklärung des Immunstatus durchgeführt werden.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

In der Gruppe der Chlamydien gibt es drei humanpathogene Erreger: Chlamydia trachomatis, Chlamydophila psittaci und Chlamydophila pneumoniae.

Chlamydia trachomatis ist der am häufigsten sexuell übertragene, bakterielle Erreger und ist häufig die Ursache einer Urethritis, Zervizitis oder Salpingitis. Neugeborene von infizierten Müttern können eine Konjunktivitis oder eine Pneumonie entwickeln.

Bestimmte Serovare verursachen das Lymphogranuloma venereum. Andere Serovare sind Ursache für das durch Schmierinfektion übertragene Trachom.

Bis vor einigen Jahren wurde die Meinung vertreten, dass Chlamydia pneumoniae eine Subspecies von Chlamydia psittaci sei. Im Jahre 1989 wurde die Existenz dieser dritten Chlamydia-Spezies etabliert. Neuere Untersuchungen führten zur Bildung der eigenen Gattung Chlamydophila. In Abhängigkeit von wirtsspezifischen Faktoren kann Chlamydophila pneumoniae akute Erkrankungen der oberen Atemwege, Bronchien und Lunge verursachen. Forschungsergebnisse lassen die Beteiligung von Chlamydophila pneumoniae an Asthma, Lungenerkrankungen und anderen chronischen Krankheiten vermuten. Chlamydophila psittaci ist ein bei Vögeln und Säugetieren weit verbreiteter Erreger. Bei Menschen kommt er nur selten vor und verursacht in der Regel respiratorische Erkrankungen.

Für die Diagnose einer Chlamydien-Infektion ist eine Gewebeuntersuchung (Abstrich) oder eine Bestimmung der Serumantikörper nötig. Wo die Antigenanreicherung schwierig ist oder die Antigene nur in einer undetektierbaren Menge existieren, ist der Antikörpernachweis zu bevorzugen. Durch die Verwendung von Chlamydien-spezifischem LPS-Antigen (LPS = Lipopolysaccharid) werden in diesem Assay Antikörper gegen alle drei Spezies gleichzeitig erkannt.

3. Testprinzip

Gereinigtes LPS ist an eine Mikrotiterplatte gebunden. In Patientenproben vorhandene Antikörper binden an das Antigen und werden in einem zweiten Schritt mit Enzym-markierten Anti-human-Antikörpern (Konjugat) nachgewiesen. Durch das Enzym wird ein farbloses Substrat (H₂O₂/TMB) zu einem blauen Endprodukt umgesetzt. Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure beendet. Dabei erfolgt gleichzeitig ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die abschließende Messung erfolgt in einem Photometer bei 450 nm (Referenzwellenlänge 620 nm).

4. Packungsinhalt

Tab. 1: Packungsinhalt (Die Reagenzien einer Packung reichen für 96 Bestimmungen)

			KGM3101 IgG/IgM
Plate	96 Best.	Mikrotiterplatte; 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit Chlamydia – LPS Antigen	X
Diluent	25 ml	Probenpuffer, gebrauchsfertig; blau-gefärbter Phosphat-Puffer; enthält Proteinstabilisatoren, Neolone und Bronidox	X
Wash	50 ml	Waschpuffer, (20fach konz.); Phosphat-Puffer, enthält Tween 20 und Proclin	X
Control IgG +	500 µl	Positivkontrolle IgG, Humanserum; enthält Neolone und Bronidox	X
Control IgM +	500 µl	Positivkontrolle IgM, Humanserum; enthält Neolone und Bronidox	X
Control IgG -	500 µl	Negativkontrolle IgG, Humanserum; enthält Neolone und Bronidox	X
Control IgM -	500 µl	Negativkontrolle IgM, Humanserum; enthält Neolone und Bronidox	X
Cut Off IgG	500 µl	Cut Off-Kontrolle IgG, Humanserum; enthält Neolone und Bronidox	X
Cut Off IgM	500 µl	Cut Off-Kontrolle IgM, Humanserum; enthält Neolone und Bronidox	X
Conjugate IgG	15 ml	Anti-human-IgG-Konjugat, gebrauchsfertig; Peroxidase-konjugierter Antikörper in orange-gefärbter Pufferlösung, enthält Neolone und Bronidox	X
Conjugate IgM	15 ml	Anti-human-IgM-Konjugat, gebrauchsfertig; Peroxidase-konjugierter Antikörper in orange-gefärbter Pufferlösung, enthält Neolone und Bronidox	X
Substrate	15 ml	Substrat H ₂ O ₂ /Tetramethylbenzidin; gebrauchsfertig	X
Stop	15 ml	Stopp-Reagenz 0.5 M Schwefelsäure; gebrauchsfertig	X

5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Das Testkit ist bei einer Lagerung von 2 - 8 °C bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendbar. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 - 8 °C vier Wochen haltbar.
- Für alle anderen Reagenzien gilt bei Lagerung 2 - 8 °C das angegebene Verfallsdatum auf der Verpackung.
- Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

- Der Alu-Beutel, in dem sich die Mikrotiterplatte befindet, ist so zu öffnen, dass der Klippverschluss nicht abgetrennt wird. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sind sofort wieder im verschlossenen Alu-Beutel bei 2 - 8 °C zu lagern.

Eine Kontamination der Reagenzien ist ebenso zu vermeiden wie eine direkte Lichteinwirkung auf das farblose Substrat.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

6.1. Reagenzien

- destilliertes oder deionisiertes Wasser
- **Vircell ELISA SORBENT (Ref. Vircell S001)** (s. Pkt. 9.3.)

6.2. Zubehör

- Inkubator oder feuchte Kammer bei 37 °C
- Probenröhrchen
- Vortex Mixer
- Mikropipetten für 10 – 100 µl und 100 – 1000 µl Volumina
- Messzylinder (1000 ml)
- Stoppuhr
- Waschgerät für Mikrotiterplatten oder Mehrkanalpipette
- Photometer für Mikrotiterplatten (450 nm, Referenzfilter 620 nm)
- Filterpapier (Labortücher)
- Abfallbehälter mit einer 0,5 %igen Natriumhypochloritlösung

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmal-Handschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) unter www.r-biopharm.com.

Die im Kit befindlichen Kontrollseren (Positivkontrolle, Negativkontrolle, Cut off-Kontrolle) wurden auf HIV- und HCV-Ak sowie HbsAg untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten sie, ebenso wie die Patientenproben und alle Materialien, die mit ihnen in Berührung kommen, als potentiell infektiös behandelt und entsprechend den jeweiligen nationalen Sicherheitsbestimmungen gehandhabt werden.

Wasserstoffperoxid (Substrat) kann zu Verätzungen führen. Vorsichtig handhaben! Bei Hautkontakt mit Wasser spülen.

Das Stopp-Reagenz enthält 1 N Schwefelsäure. Hautkontakt sowie Kontakt mit Kleidung vermeiden! Bei Hautkontakt mit Wasser spülen.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

Hinweis: Um die Bildung giftiger Gase zu vermeiden, muss Flüssigabfall, der Stopp-Reagenz enthält, neutralisiert werden, bevor er in eine Hypochloritlösung gegeben wird.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Der Test ist für die Untersuchung humaner Serum- oder Plasma-Proben entwickelt worden. Nach der Blutentnahme sollte zur Vermeidung einer Hämolyse das Serum möglichst schnell vom Blutkuchen getrennt werden. Die Proben sind bis zur Testung kühl oder gefroren zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Proben ist unbedingt zu vermeiden, ebenso mikrobielle Kontamination. Die Verwendung von Hitze inaktivierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder trüben Proben kann zu verfälschten Ergebnissen führen.

Tab. 2: Probenlagerung

unverdünntes Serum oder Plasma	
2 - 8 °C	-20 °C
1 Woche	> 1 Woche

9. Testdurchführung

9.1 Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien und die Mikrotiterstreifen auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Die Mikrotiterstreifen sind erst nach Erreichen der Raumtemperatur dem Alu-Beutel zu entnehmen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch ist das Kit sofort wieder bei 2 - 8 °C zu lagern.

Es sollte nur so viel Reagenz entnommen werden, wie für die Durchführung des Tests benötigt wird. Überschüssiges Reagenz darf nicht in die Gefäße zurückgegeben werden, da dies zu einer Kontamination führen kann.

Die Mikrotiterstreifen können nicht mehrfach verwendet werden. Reagenzien und Mikrotiterstreifen dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

Probenpuffer, Waschpuffer, Substrat und Stopp-Reagenz sind nicht Test-spezifisch; sie können auch bei anderen RIDASCREEN® ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien verwendet werden.

9.2 Herstellung des Waschpuffers

1 Teil des Waschpuffer-Konzentrates **Wash** wird mit 19 Teilen destillierten Wassers gemischt. Hierfür werden 50 ml des Konzentrates in einen 1000 ml Standzylinder gegeben und mit destilliertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle sind vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) zu lösen. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 - 8 °C vier Wochen haltbar.

9.3 Vorbereitung der Probe

Die zu untersuchenden Serumproben sowie die Kontrollen werden zu Testbeginn mit dem Probenpuffer **Diluent** 1:21 verdünnt. Die Verdünnung wird direkt in der Mikrotiterplatte durchgeführt. Die Cut Off-Kontrolle ist in Doppelbestimmung durchzuführen. Die der Bestimmung (IgG, IgM) entsprechenden Kontrollen sind zu verwenden.

- A1 Negativkontrolle
- B1 Cut Off-Kontrolle
- C1 Cut Off-Kontrolle
- D1 Positivkontrolle
- E1, F1 Patientenserum 1, 2, usw.

Nach dem Einstecken einer ausreichenden Zahl von Kavitäten für die Kontrollen und die Proben in den Halterahmen werden für die IgG-Bestimmung je 100 µl Probenpuffer in die Vertiefungen der Platte pipettiert und anschließend 5 µl Probe bzw. Kontrolle zugegeben. Zur Durchmischung sollte die Platte kurz geschüttelt werden:

IgG:

Proben und Kontrollen -> 100 µl **Diluent** + 5 µl Probe oder Kontrolle

Für die IgM-Bestimmungen sollten die Proben in der Platte einer IgG-Absorption (z. B. mit dem **Vircell ELISA SORBENT (Ref. Vircell S001)**) unterzogen und erst danach mit dem Probenpuffer auf die im Test benötigte Verdünnung eingestellt werden. Bei Verwendung des **Vircell ELISA SORBENT** ist folgendermaßen vorzugehen:

IgM:

Kontrollen -> 100 µl **Diluent** + 5 µl Kontrolle

Proben -> 25 µl **Vircell ELISA SORBENT** + 5 µl Probe + 75 µl **Diluent**

Hinweis: Die Kontrollen dürfen nicht absorbiert werden.

9.4 Erste Inkubation

Die Platte wird 45 Minuten bei 37 °C in einem Inkubator oder in einer feuchten Kammer inkubiert. Dabei sollte der Boden der Kavitäten keinen Kontakt zu gut wärmeleitenden

Materialien (Metall oder feuchtes Papier) haben. Die Mikrotiterplatte ist während der Inkubation abzudecken.

Hinweis: Die Mikrotiterplatte darf nicht in ein kühles Inkubationsbehältnis gestellt werden, das sich erst während der Inkubation auf 37 °C erwärmt. Das Behältnis muss schon vorab an 37 °C adaptiert sein.

9.5 Waschen

Die Kavitäten sollten in einen Abfallbehälter mit Hypochloritlösung zur Desinfektion entleert werden. Anschließend wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Danach wird 5 mal mit jeweils 300 µl verdünntem Waschpuffer gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

Bei Verwendung eines Waschautomaten ist auf die korrekte Einstellung des Gerätes auf den verwendeten Plattentyp zu achten. Nach dem Waschen sollte die Platte auf saugfähigem, sauberem Papier ausgeklopft werden, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen.

9.6 Zweite Inkubation

Zugabe von 100 µl Konjugat oder in die entsprechenden Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert (siehe Pkt. 9.4.).

9.7 Waschen

5maliges Waschen gemäß Pkt. 9.5.

9.8 Dritte Inkubation

Zugabe von 100 µl Substrat in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte abgedeckt und 20 Minuten bei Raumtemperatur, vor Licht geschützt, inkubiert. Danach wird durch Zugabe von 50 µl Stopp-Reagenz in alle Vertiefungen die Reaktion gestoppt. Nach vorsichtigem Mischen (leichtes Tippen an den Plattenrand) wird die Extinktion in einem Plattenphotometer bei 450 nm gemessen (Referenzwellenlänge 620 nm). Der Abgleich des Nullwertes erfolgt gegen Luft. Die Messung sollte innerhalb einer Stunde nach Zugabe des Stopp-Reagenzes durchgeführt werden.

Hinweis: Bei Verwendung einer feuchten Kammer muss zur Entfernung von Kondenswasser die Unterseite der Mikrotiterplatte vor der Messung abgewischt werden.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Für die Qualitätskontrolle sind bei jeder Testdurchführung Positiv-, Negativ- und Cut Off-Kontrolle mitzuführen. Die Cut Off-Kontrolle wird in Doppelbestimmung durchgeführt und der Mittelwert aus den beiden Einzelmessungen gebildet. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn die Extinktionswerte (O.D.) der Kontrollen folgende Kriterien erfüllen:

Tab. 3: Kriterien für die Qualitätskontrolle

	OD
Negativ Kontrolle	< 0,5
Cut-off Kontrolle	> 0,55 < 1,5
Positiv Kontrolle	> 0,9

Eine Abweichung von den geforderten Werten sowie eine Reagenzentrübung oder Blaufärbung des Substrates vor Zugabe in die Kavitäten können ein Hinweis auf einen Reagenzienverfall sein.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläulich gefärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden

Sind nach Testwiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller.

11. Auswertung und Interpretation

11.1 Berechnung des Probenindex

1. Der Extinktionsmittelwert der Cut-off Kontrolle wird berechnet.
2. Division der Extinktion der Patientenprobe durch den berechneten Extinktionsmittelwert der Cut-off Kontrolle.

z. B.: Cut-off Kontrolle 1 OD = 0,821
Cut-off Kontrolle 2 OD = 0,865
Mittelwert:= 0,843
Proben OD = 1,508

$$\text{Proben-Index} = \frac{1,508}{0,843} = 1,789$$

11.2 Interpretation der Ergebnisse

Tab. 4: Bewertung des Probenindex

	negativ	grenzwertig	positiv
Proben-Index	< 0,9	0,9 - 1,1	> 1,1

12. Grenzen der Methode

Der RIDASCREEN® Chlamydia IgG/IgM ELISA weist IgG- bzw. IgM-Antikörper gegen alle drei humanpathogenen Chlamydien Spezies nach. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe des gemessenen Extinktionswertes und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. Der Test ist nicht geeignet den Ort der Infektion zu lokalisieren. Die erzielten Ergebnisse sind in Verbindung mit dem klinischen Bild und anderen diagnostischen Methoden (z.B. Erregerisolierung) zu interpretieren.

Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion nicht aus, da die Serumentnahme zu einem so frühen Zeitpunkt erfolgt sein kann, dass Antikörper noch nicht nachweisbar sind. Bei bestehen-dem klinischen Verdacht sollte in diesem Fall nach zwei bis drei Wochen ein Folgeserum untersucht werden.

Generell sollten bei serologischen Untersuchungen zur Verbesserung der diagnostischen Aussage immer zwei aufeinander folgende Seren eines Patienten parallel untersucht werden. Wichtig für die Interpretation eines Befundes ist der Verlauf des Titers.

Positive IgG-Befunde bei Neugeborenen sind vorsichtig zu interpretieren, da sie durch mater-nale Antikörper hervorgerufen worden sein können. Der Nachweis von IgM-Antikörpern ist bei Kindern kleiner sechs Monate hilfreicher.

Durch sehr hohe IgG-Titer können bei IgM-Bestimmungen falsch negative Ergebnisse verursacht werden. Zudem kann es bei IgM-Bestimmungen durch Rheumafaktoren zu

falsch positiv-ven Ergebnissen kommen. Dies kann durch eine Absorption des Serum vor der Testdurchführung (siehe Pkt. 9.3.) vermieden werden.

Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen Chlamydia psittaci wurden aufgrund der niedrigen Prävalenz dieser Erkrankung und eines Mangels an positiven Proben mit dem vorliegenden Test nicht untersucht.

Die Immunantwort bei Infektion der Augen mit C. trachomatis ist gering.

Der Test wurde nicht auf seine Eignung zur Therapiekontrolle validiert. Die Aussagekraft des Tests bei chronischen Erkrankungen von Kindern sowie bei Patienten mit Lymphogranuloma venereum (LGV) und chronischen Entzündungen des Beckens wurde nicht untersucht.

Ein positives Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger als Ursache für eine Erkrankung nicht aus.

13. Leistungsmerkmale

Tab. 5: Inter-Assay-Varianz (n = 10)

Inter-Assay-Varianz	IgG	IgM
	VK	VK
Positivkontrolle	3,22 %	2,62 %
Negativkontrolle	10,99 %	9,24 %
Cut off-Kontrolle	5,00 %	7,36 %

Tab. 6: Intra-Assay-Varianz (n = 10)

Intra-Assay-Varianz	IgG	IgM
	VK	VK
Positivkontrolle	1,83 %	2,16 %
Negativkontrolle	6,98 %	8,00 %
Cut off-Kontrolle	6,55 %	7,79 %

Tab. 7: Sensitivität und Spezifität im Vergleich zum Mikroimmunfluoreszenztest (MIF)

	IgG	IgM
Probenanzahl	101	62
Sensitivität	96 %	92 %
Spezifität	98 %	100 %










Zusätzlich wurden elf Proben von Patienten im IgG-Test untersucht, die mit *Rickettsia conorii* oder anderen Erregern infiziert waren, die ähnliche Krankheitsbilder wie Chlamydien verursachen (HSV-2, *L. pneumophila*, *C. burnetii*, *M. pneumoniae*). Im IgM-Test wurden sieben solcher Proben untersucht, sowie drei Rheumafaktor-positive Seren. Es zeigten sich bei den untersuchten Seren keine Kreuzreaktionen oder Beeinflussungen des ELISA-Ergebnisses.

14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2015-11-01	Freigabeversion
2018-08-15	Generelle Überarbeitung
2018-09-20	Anpassung CE Zeichen (Identifikationsnummer Notified Body)
2019-12-16	Anpassung 6.1. Reagenzien Anpassung 9.3. Vorbereitung der Probe

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Testspezifische Symbole

Plate	Mikrotiterplatte
Diluent	Probenpuffer
Wash	Waschpuffer 20x
Control IgG +	Positivkontrolle IgG
Control IgM +	Positivkontrolle IgM
Control IgG -	Negativkontrolle IgG
Control IgM -	Negativkontrolle IgM
Cut Off IgG	Cut off Kontrolle IgG
Cut Off IgM	Cut off Kontrolle IgM
Conjugate IgG	Konjugat IgG
Conjugate IgM	Konjugat IgM
Substrate	Substrat
Stop	Stopp-Reagenz

16. Literatur

1. Finn, M. P., A. Ohlin, and J. Schachter. 1983. Enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin G and M antibodies to *Chlamydia trachomatis* in human sera. J Clin Microbiol 17:848-52.
2. Gonen, R., Y. Shemer-Avni, P. A. Csango, B. Sarov, and M. G. Friedman. 1993. Serum reactivity to *Chlamydia trachomatis* and *C. pneumoniae* antigens in patients with documented infection and in healthy children by microimmunofluorescence and immunoblotting techniques. APMIS 101:719-26.
3. Gutierrez, J., J. Mendoza, F. Fernandez, J. Linares-Palomino, M. J. Soto, and M. C. Maroto. 2002. ELISA test to detect *Chlamydomphila pneumoniae* IgG. J Basic Microbiol 42:13-8.
4. Jauhainainen, T., T. Tuomi, M. Leinonen, J. D. Kark, and P. Saikku. 1994. Interference of immunoglobulin G (IgG) antibodies in IgA antibody determinations of *Chlamydia pneumoniae* by microimmunofluorescence test. J Clin Microbiol 32:839-40.
5. Jones, R. B., S. C. Bruins, and W. J. Newhall 5th. 1983. Comparison of reticulate and elementary body antigens in detection of antibodies against *Chlamydia trachomatis* by an enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol 17:466-71.
6. Ladany, S., C. M. Black, C. E. Farshy, J. M. Ossewaarde, and R. C. Barnes. 1989. Enzyme immunoassay to determine exposure to *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR). J Clin Microbiol 27:2778-83.
7. Mahony, J. B., J. Schachter, and M. A. Chernesky. 1983. Detection of antichlamydial immunoglobulin G and M antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol 18:270-5.
8. Numazaki, K., T. Ikebe, and S. Chiba. 1996. Detection of serum antibodies against *Chlamydia pneumoniae* by ELISA. FEMS Immunol Med Microbiol 14:179-83.
9. Ossewaarde, J. M., A. de Vries, J. A. van den Hoek, and A. M. van Loon. 1994. Enzyme immunoassay with enhanced specificity for detection of antibodies to *Chlamydia trachomatis*. J Clin Microbiol 32:1419-26.