

Comparison of different diagnostic kits and antigens for the detection of chlamydial antibodies in sera of patients with respiratory diseases

Kovacova E, Siposova E, Komzikova A, Kazar J

Porovnanie rôznych diagnostických súprav a antigénov pre dôkaz chlamýdiových protilátok v sérach pacientov s respiračnými ochoreniami

Abstract

Kovacova E, Siposova E, Komzikova A, Kazar J:
Comparison of different diagnostic kits and antigens for the detection of chlamydial antibodies in sera of patients with respiratory diseases
 Bratisl Lek Listy 2000; 101 (7): 398–401

Examination of sera of patients with respiratory diseases did not reveal any substantial difference in detection of chlamydial antibodies by ELISA using two commercial kits (Chlamydia STAT and rELISA) demonstrating IgG antibodies and two corpuscular antigens prepared from *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia pneumoniae* in the Institute of Virology, SAS, in Bratislava detecting whole serum antibodies. However, higher sensitivity of rELISA diagnostic kit was found when analyzing immunoglobulin classes, namely in case of IgG antibodies. Results of ELISA were in a great majority of cases, confirmed by examination of sera by microimmunofluorescence test, corpuscular antigens from the Institute of Virology being somewhat more sensitive than the commercial Micro-IF test kit. (Tab. 4, Ref. 23.)

Key words: *C. pneumoniae*, serologic diagnosis, antigens, diagnostic kits.

Chlamýdiové nákazy patria svojim rozšírením k najčastejšie sa vyskytujúcim ochoreniam ľudí, so spektrom príznakov vyžadujúcich si pozornosť nielen infektológov, ale aj gynekológov, dermatovenerológov, urológov, oftalmológov, reumatológov a pediatrov (Kazar a spol., 1992).

Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava.
 virukova@savba.sk

National Institute of Tuberculosis and Respiratory Diseases, Bratislava, and Institute of Preventive and Clinical Medicine, Bratislava
Address for correspondence: E. Kovacova, RND, PhD, Institute of Virology SAV, Dubravská cesta 9, SK-842 45 Bratislava 4, Slovakia.
 Phone: +421.7.5930 2433, Fax:

Abstrakt

Kováčová E., Šipošová E., Komžíková A., Kazár J.:
 Porovnanie rôznych diagnostických súprav a antigénov pre dôkaz chlamýdiových protilátok v sérach pacientov s respiračnými ochoreniami
 Bratisl. lek. Listy, 101, 2000, č. 7, s. 398–401

Pri vyšetrení sér pacientov s respiračnými ochoreniami sme nepozorovali podstatný rozdiel v dôkaze chlamýdiových protilátok metódou ELISA s použitím dvoch komerčných súprav (Chlamydia STAT a rELISA) dokazujúcich IgG-protilátky a dvoch korpuskulárnych antigénov pripravených z *Chlamydia psittaci* a *Chlamydia pneumoniae* vo Virologickom ústave SAV v Bratislave dokazujúcich celkové protilátky. Analýza imunoglobulínových tried však odryla o niečo väčšiu citlivosť diagnostickej súpravy rELISA, najmä v prípade IgG-protilátok. Výsledky ELISA metódy vo veľkej väčšine prípadov potvrdilo vyšetrenie sér mikroimunofluorescenčným testom umožňujúcim rozlíšenie protilátok proti jednotlivým druhom chlamýdií, pričom korpuskulárne antigény z Virologického ústavu boli o niečo citlivejšie ako komerčná súprava Micro-IF test kit. (Tab. 4, lit. 23.)

Kľúčové slová: *C. pneumoniae*, sérodiagnostika, antigény, diagnostické súpravy.

Cieľom tejto štúdie bola snaha zistiť výskyt chlamýdiových protilátok u pacientov s respiračnými ochoreniami a porovnať ich dôkaz metódou ELISA a mikroimunofluorescenčným (MIF) testom s použitím niektorých komerčných súprav a chlamýdiových antigénov pripravených vo Virologickom ústave (VÚ) SAV.

Virologický ústav Slovenskej akadémie vied v Bratislave,
 Národný ústav tuberkulózy a respiračných chorôb v Bratislave a
 Ústav preventívnej a klinickej medicíny v Bratislave

Adresa: RNDr. E. Kováčová, CSc., Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 842 45 Bratislava 4.

Tab. 1. Comparison of different chlamydial kits and antigens to detect chlamydial antibodies by ELISA.**Tab. 1. Porovnanie rôznych chlamýdiových súprav a antigénov pre dôkaz chlamýdiových protilátok metódou ELISA.**

Riedenie	Počet (%) pozitívnych sér s použitými súpravami a séra antigénmi z počtu vyšetovaných sér (n)			
	Chlamydia STAT n=198	rELISA n=81	C. psittaci (EPO) n=198	C. pneum. n=173
1:500	0	6 (7,4)	16 (8,1)	17 (9,8)
1:1000	0	9 (11,1)	18 (9,1)	13 (7,5)
1:2000	0	4 (4,9)	12 (6,1)	10 (5,8)
Spolu	49 (24,7)	19 (23,4)	46 (23,2)	40 (23,1)

Súpravy Chlamydia STAT a rELISA dokazovali IgG-protilátky, korpuskulárne antigény *C. psittaci* a *C. pneumoniae* z VÚ celkové protilátky; v prípade súpravy Chlamydia STAT sa použilo iba riedenie séra 1:50 podľa odporúčania výrobcu.

Materiál a metodika

V rokoch 1996 a 1997 sme zozbierali v Národnom ústave tuberkulózy a respiračných chorôb v Podunajských Biskupiciach 198 sér od pacientov s rôznymi respiračnými ochoreniami (48 s bronchitídou a 42 s pneumóniou). Z nich bolo 48 mužov, 84 žien a 66 detí vo veku 1—15 rokov.

Na porovnanie dôkazu chlamýdiových protilátok sme použili dve komerčne dostupné ELISA súpravy — Chlamydia STAT (Wampole Laboratories, New Jersey, USA) a rELISA (MEDAC, SRN) a imunofluorescenčnú súpravu Micro-IF test kit (Labsystems, Fínsko). Prvá súprava sa používa na stanovenie IgG špecifických protilátok v jednej vzorke séra alebo vzostupu titrov protilátok v párových vzorkách sér. Druhou súpravou sa stanovujú protilátky IgG, IgM a IgA triedy použitím chemicky definovaného antigénu, a síce fragmentu lipopolysacharidu (LPS), ktorý je charakteristický pre celý rod *Chlamydia* a nenašiel sa v inom LPS (Brade a spol., 1990). Micro-IF test kit používa ako antigény elementárne telieska jednotlivých, pre človeka patogénnych, druhov chlamýdií (*C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae*) a umožňuje rozlíšenie nimi spôsobovaných infekcií.

Pri použití imunoenzymatických komerčných súprav sme postupovali pri kalkulácii pozitivity a negativity sér podľa odporúčaní výrobcov. Za hraničné pozitívne riedenia sér v IF teste sme považovali 1:64 pre IgG, 1:32 pre IgA a 1:16 pre IgM.

Antigény na VÚ sme pripravovali z kmeňa IOL-207 *C. pneumoniae* (zo zbierky Institute of Ophthalmology v Londýne), kmeňa sérotypu E *C. trachomatis* a kmeňov *C. psittaci*, a síce 6BC (z americkej zbierky mikroorganizmov) a EPO izolovaného z enzootického potratu oviec na Slovensku (Šádecký a spol., 1978). Korpuskulárne antigény sme pripravili diferenciálnou centrifugáciou a éterovou extrakciou (Ormsbee, 1962) z chlamýdií pomnožených v žltkových vakoch kuracích zárodokov. Suspenziu získaných antigénov sme adjustovali meraním absorbancie na koncentráciu 1 mg/1 ml tlmeneho fyziologického roztoku.

S antigénmi, ktoré sme pripravili, sme pri dôkaze chlamýdiových protilátok metódou ELISA pozitívitu kalkulovali z hodnôt, ktoré sme získali meraním pri A450 10 negatívnych sér plus troj-

Tab. 2. Detection of chlamydial antibodies of different immunoglobulin classes by ELISA.**Tab. 2. Dôkaz chlamýdiových protilátok rôznych imunoglobulínových tried metódou ELISA.**

Trieda Ig	Počet (%) pozitívnych sér s použitými antigénmi chlamýdií (korpuskulárne antigény z VÚ)			
	C. psittaci (EPO) n=198	C. psittaci (6BC) n=198	C. pneum. n=173	rELISA n=81
IgG	25 (12,6)	19 (9,6)	21 (12,1)	15 (18,5)
IgA	7 (3,5)	4 (2,0)	8 (4,6)	4 (4,9)
IgM	3 (1,5)	1 (0,5)	3 (1,7)	1 (1,2)
IgG+IgA	11 (5,5)	18 (9,1)	8 (4,6)	4 (4,9)
Spolu	46 (23,2)	42 (21,2)	40 (23,1)	24 (29,6)
IgA spolu	18 (9,1)	22 (11,1)	16 (9,2)	8 (9,9)
IgG spolu	36 (18,2)	37 (18,7)	29 (16,8)	19 (23,4)

násobná štandardná odchýlka ($x+3SD$), čo zodpovedalo riedeniu 1:500 vyšetovaných sér (Kováčová a spol., 1987). V MIF teste sme za hraničnú hodnotu pozitivity všetkých imunoglobulínových (Ig) tried považovali riedenie sér 1:32.

Výsledky

V tabuľke 1 sú porovnané výsledky sérovyšetrenia chlamýdiových protilátok metódou ELISA s použitím dvoch komerčných súprav a dvoch korpuskulárnych antigénov pripravených na VÚ z *C. pneumoniae* a *C. psittaci*. V citlivosti súprav a antigénov sme nepozorovali žiadne podstatné rozdiely ani v celkovom hodnotení pozitivity sér (od 23,1 % do 24,7 %), ani pri ich jednotlivých riedeniach. Komerčné súpravy Chlamydia Stat a rELISA však mohli byť o niečo citlivejšie, pretože dokazovali iba IgG-protilátky, kým chlamýdiové antigény z VÚ celkové protilátky.

Tento predpoklad sa potvrdil pri analýze dôkazu IgA, IgG a IgM tried chlamýdiových protilátok rôznych Ig tried metódou ELISA (tab. 2), kde so súpravou MEDAC sme našli celkovú pozitívitu o 6,4 % až 8,4 % vyššiu ako pri použití antigénov z VÚ, čo spôsobila predovšetkým prítomnosť IgG-protilátok (rozdiel 4,7 % až 6,6 %). Na druhej strane prítomnosť IgA-protilátok, či už samotných alebo spolu s IgG, bola podobná a ich celková prítomnosť bola od 9,1 % do 11,1 %. IgM-protilátky sa vyskytovali len zriedkavo od 0,5 % do 1,7 % podľa použitého chlamýdiového antigénu. Rozdiely v citlivosti antigénov z jednotlivých druhov chlamýdií (*C. psittaci* vs. *C. pneumoniae*) alebo z dvoch kmeňov chlamýdií toho istého druhu (kmene EPO a 6BC *C. psittaci*) boli zanedbateľné (2,0 %).

Všeobecne pri dôkaze chlamýdiových protilátok metódou ELISA až na ojedinelé výnimky platilo, že séra pozitívne pri vyšetrení s jednou súpravou alebo antigénom boli pozitívne aj pri vyšetrení inou súpravou, resp. antigénom. Celkovo sme našli 52 pozitívnych sér (26,3 %, z ktorých podstatne viac bolo u dospelých, t.j. 46 zo 132 (34,8 %) ako u detí, t.j. 6 zo 66 (9,1 %). Z dospelých boli častejšie pozitívne ženy — 31 z 84 (36,9 %) ako muži — 15 zo 48 (31,2 %).

V ďalšom vyšetrení sme sa zamerali na dôkaz protilátok proti jednotlivým druhom chlamýdií. Pre toto sledovanie sme vybrali

Tab. 3. Comparison of Micro-IF test kit and corpuscular antigens from VÚ to detect chlamydial antibodies by the MIF test.
Tab. 3. Porovnanie súpravy Micro-IF test kit a korpuskulárnych antigénov z VÚ pre dôkaz chlamýdiových protilátok MIF testom.

Riedenie	Počet (%) pozitívnych sér zo 60 vyšetrených s antigénmi séra					
	Súpravy Micro-IF test kit korpuskul. antigénmi z VÚ					
	C.trach.	C.pneum.	C.psit.	C.trach.	C.pneum.	C.psit.
1:32	5 (8,3)	6 (10,0)	0	4 (6,6)	6 (10,0)	0
1:64	12 (20,0)	10 (16,6)	0	15 (30,0)	12 (20,0)	1 (1,7)
1:128	8 (13,3)	7 (11,6)	0	8 (13,3)	8 (13,3)	0
Spolu	25 (41,7)	23 (38,3)	0	27 (45,0)	25 (41,7)	1 (1,7)

50 pozitívnych a 10 negatívnych sér pri vyšetrení metódou ELISA so súpravou Chlamydia STAT a s antigénom *C. pneumoniae* z VÚ. Z 50 pozitívnych sér sme v MIF teste s komerčnou súpravou Micro-IF test kit našli spolu 48 pozitívnych a s korpuskulárnymi antigénmi z VÚ spolu 53 pozitívnych, čo svedčí buď o väčšej citlivosti, buď o nižšej špecificite nami pripravených antigénov. Pri hodnotení všetkých 60 sér vyšetovaných v MIF teste, t.j. 50 pozitívnych a 10 negatívnych v metóde ELISA, sme o niečo väčšiu citlivosť našich antigénov zistili aj pri dôkaze protilátok proti *C. trachomatis* (3,3 %) a *C. pneumoniae* (3,4 %) a v jednom prípade sme našli protilátky aj proti *C. psittaci* (tab. 3). Podobná bola situácia v dôkaze protilátok IgG tried proti jednotlivým druhom chlamýdií s o niečo väčšou citlivosťou antigénov z VÚ pre dôkaz IgG (o 5,0 % pre *C. trachomatis* a o 3,3 % pre *C. pneumoniae*), IgA (o 3,3 % pre *C. trachomatis* a o 1,7 % pre *C. pneumoniae*) a IgM (3,3 % pre *C. trachomatis* aj *C. pneumoniae*) protilátok (tab. 4).

Diskusia

Sérodiagnostika chlamýdiových nákaz je založená na dôkaze chlamýdiových protilátok v reakcii väzby komplementu (RVK), metódou ELISA a v MIF teste (Wang a Grayston, 1975; Finn a spol., 1983; Ozanne a Lefebvre, 1992; Wong a spol., 1994). V RVK a v metóde ELISA sa dokazujú rodovo-špecifické protilátky namierené proti lipopolysacharidovému antigénu spoločnému všetkým druhom chlamýdií, v RVK je však možná skrížená sérreaktívita aj s inými mikroorganizmami (Saikku, 1982; Maurin a spol., 1997). Výhodou MIF testu je, že dokazuje druhovo-špecifické a typovo-špecifické protilátky, čím umožňuje vzájomné odlišenie jednotlivých druhov chlamýdií, prípadne sérotypov *C. trachomatis* (Wang a Grayston, 1975), hoci niektorí autori pozorovali skríženú reaktivitu medzi *C. pneumoniae* a inými druhmi chlamýdií (Ozanne a Lefebvre, 1992; Moss a spol., 1993). V poslednom čase sú podľa údajov niektorých firiem vhodné pre dôkaz druhovo-špecifických protilátok aj niektoré súpravy ELISA.

Z uvedeného vyplýva, že dôkaz chlamýdiových protilátok metódou ELISA s použitím bežne dostupných súprav (prípadne v RVK) síce diagnostikuje predchádzajúcu alebo súčasnú chlamýdiovú infekciu, ale neurčuje ochorenie spôsobené konkrétnym druhom chlamýdií. Pre ich diferenciaciu treba použiť MIF test, prípadne takú diagnostickú súpravu typu ELISA, ktorá

Tab. 4. Detection of different Ig classes of chlamydial antibodies by the MIF test using the Micro-IF test kit and corpuscular antigens from VÚ.

Tab. 4. Dôkaz rôznych imunoglobulínových tried chlamýdiových protilátok s použitím súpravy Micro-IF test kit a korpuskulárnych antigénov z VÚ.

Trieda Ig	Počet (%) pozitívnych sér zo 60 vyšetrených s antigénmi					
	Súpravy Micro-IF test kit korpuskul. antigénmi z VÚ					
	C.trach.	C.pneum.	C.psit.	C.trach.	C.pneum.	C.psit.
IgG	14 (23,3)	14 (23,3)	0	12 (20,0)	13 (21,6)	1 (1,7)
IgA	5 (8,3)	6 (10,0)	0	2 (3,3)	6 (10,0)	0
IgM	5 (8,3)	1 (1,7)	0	2 (3,3)	1 (1,7)	0
IgG+IgA	0	2 (3,3)	0	10 (16,6)	3 (5,0)	0
IgG+IgM	5 (8,3)	0	0	1 (1,7)	2 (3,3)	0
Spolu	25 (41,7)	23 (38,3)	0	27 (45,0)	25 (41,7)	1 (1,7)
IgG spolu	20 (33,3)	16 (26,7)	0	23 (38,3)	18 (30,0)	1 (1,7)
IgA spolu	10 (16,7)	8 (13,3)	0	12 (20,0)	9 (15,0)	0
IgM spolu	1 (1,7)	1 (1,7)	0	3 (5,0)	3 (5,0)	0

odlišenie infekcií *C. trachomatis*, *C. psittaci* a *C. pneumoniae* umožňuje.

Pokiaľ ide o Ig-triedy chlamýdiových protilátok, všeobecne platí, že IgG-protilátky vypovedajú o prekonanej chlamýdiovej nákaze, prítomnosť IgA protilátok naznačuje perzistenciu chlamýdií (Mendall a spol., 1995) a iba dôkaz IgM-protilátok určuje akútnu alebo recentnú chlamýdiovú infekciu, ktorý je dôležitý najmä pri pneumóniách u dojcí (Schachter a spol., 1982). Aj keď IgM-protilátky obyčajne vymiznú za 8–10 týždňov po chlamýdiovej infekcii (Věžník a Pospíšil, 1997), ich dlhodobé pretrvávanie sa pozorovalo u niektorých pacientov s chronickým obštrukčným ochorením pľúc (Verkooyen, 1997).

V našom súbore sme chlamýdiové protilátky našli u viac ako 26 % pacientov s respiračnými ochoreniami. Analýzou protilátok namierených proti jednotlivým druhom chlamýdií sme však zistili, že iba približne polovica z nich mala protilátky proti *C. pneumoniae*, kým u väčšiny sme dokazovali protilátky proti *C. trachomatis* a iba v jednom prípade proti *C. psittaci*. Pozorovaný výskyt protilátok proti *C. pneumoniae* je nižší ako výskyt podľa sérologického prehľadu z 80. rokov v bývalom Česko-Slovensku (Forsey a spol., 1986) a nedávneho séroepidemiologického prehľadu z Českej republiky (Sodja a spol., 1998), čo možno čiastočne vysvetliť, že jednu tretinu v našom súbore tvorili deti. Nízky výskyt protilátok proti *C. psittaci* a frekvencia výskytu protilátok proti *C. trachomatis* zodpovedali výsledkom predchádzajúcich sledovaní (Forsey a spol., 1986; Kazár a spol., 1987).

Prevažný výskyt protilátok IgG a IgA triedy (či už metódou ELISA alebo v MIF teste) nasvedčuje tomu, že vo veľkej väčšine prípadov išlo o dávnejšiu infekciu *C. trachomatis* alebo *C. pneumoniae*. Keďže sme nemali možnosť vyšetriť párové vzorky sér s prípadnou sérokonverziou alebo vzostupom titru protilátok, na akútnu infekciu týmito chlamýdiami môžeme myslieť iba v ojedinelých prípadoch dôkazu IgM-protilátok. V inej našej štúdií sme však sérologicky dokázali účasť *C. pneumoniae* pri chrípkovej epidémii u nás (Kováčová a Kazár, v tlači), takže pri diferenciálnej diagnostike respiračných nákaz treba na ňu myslieť.

Záver

Zo získaných výsledkov je zrejmé, že len jeden sérotest nestačí pre diagnostikovanie ochorení spôsobených tým-ktorým druhom chlamýdií. Citlivosť použitých diagnostických súprav a chlamýdiových antigénov pripravených na VÚ sa zásadne nelíšila, aj keď v metóde ELISA bola súprava rELISA predsa len o niečo citlivejšia. Výber diagnostickej súpravy, resp. chlamýdiového antigénu závisí teda od účelu, ktorý sa od sérodiagnostiky očakáva, pričom treba brať do úvahy, že porovnávanie diagnostických súprav rôznej proveniencie nemusí dať jednoznačné výsledky (Bebe a spol., 1996; Chan a spol., 1997; Petit-jean a spol., 1998).*

Literatúra

- Bebe J.L., Masters H., Jungkind D., Meltzel D.M., Weinberg A.:** Confirmation of the Syva micro Track enzyme immunoassay for *Chlamydia trachomatis* by Syva direct fluorescent antibody test. *Sex. Transm. Dis.*, 23, 1996, č. 6, s. 465—470.
- Brade L., Holst O., Kosma P., Zhang Y.X., Paulsen H., Krause R., Brade H.:** Characterization of murine monoclonal and murine, rabbit and human polyclonal antibodies against chlamydial lipopolysaccharide. *Infect. Immun.*, 58, 1990, č. 1, s. 205—213.
- Finn M.P., Ohlin, A., Schachter J.:** Enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M and G antibodies to *Chlamydia trachomatis* in human sera. *J. Clin. Microbiol.*, 17, 1983, č. 5, s. 848—852.
- Forsey T., Kazár J., Dines R.J., Darougar S.:** Seroepidemiological survey of chlamydial infections in Czechoslovakia. S. 507—510. In: Oriol J.D., Ridgway G., Schachter J., Taylor-Robinson D., Ward M. (Eds.): *Chlamydial infections*. New York, Cambridge University Press 1986.
- Chan E.L., Brandt K., Stoneham H., Horsman G.:** Comparison of the Sanofi Diagnostics Pasteur Chlamydia Microplazte EIA shortened assay with the original standard assay and cell culture. *J. Med. Microbiol.*, 46, 1997, č. 8, s. 711—713.
- Kazár J., Lokša V., Osuský P.:** In: Čiampor F., Štencl J. (Eds.): *Chlamýdiové nákazy u ľudí*. S. 1—116. Bratislava, Veda 1992.
- Kazár J., Forsey T., Darougar S., Petkov V., Podaná P., Strauus J., Štencl J., Lokša V., Palanová A., Kohútová V., Kliment C., Sitár R., Doliak M.:** Sérologický prehľad výskytu ľudských chlamýdiových nákaz v Československu. *Čs. Epidem. Mikrobiol. Imunol.*, 36, 1987, č. 1, s. 25—34.
- Kováčová J., Kazár J.:** Participation of *Chlamydia pneumoniae* in an epidemic of respiratory infections in Slovakia. *Cent. Europ. J. Publ. Health* (v tlači).
- Kováčová E., Gallo J., Schramek, Š., Kazár J., Brezina R.:** *Coxiella burnetii* antigens for detection of Q fever antibodies by ELISA in human sera. *Acta Virol.*, 31, 1987, č. 3, s. 254—259.
- Maurin M., Eb F., Etienne J., Raoult D.:** Serological cross-reaction between *Bartonella* and *Chlamydia* species. Implications for diagnosis. *J. Clin. Microbiol.*, 35, 1997, č. 9, s. 2283—2287.
- Mendall M.A., Carrington D., Strachan D., Patel P., Molineaux N., Levi J., Toosey T., Camm A.J., Northfield T.C.:** *Chlamydia pneumoniae*: risk factors for seropositivity and association with coronary heart disease. *J. Infect.*, 30, 1995, č. 2, s. 121—128.
- Moss T.R., Darougar S., Woodland R.M., Nathan M., Dines R.J., Cathrine V.:** Antibodies to *Chlamydia* species in patients attending a genitourinary clinic and the impact of antibodies to *Chlamydia pneumoniae* and *Chlamydia psittacii* on the sensitivity and specificity of *Chlamydia trachomatis* serology tests. *Sex. Trans. Dis.*, 20, 1993, č. 2, s. 61—65.
- Ormsbee R.A.:** A method of purifying of *Coxiella burnetii* and other pathogenic rickettsiae. *J. Immunol.*, 88, 1962, s. 100—108.
- Ozanne G., Lefebvre J.:** Specificity of the microimmunofluorescence assay for the serodiagnosis of *Chlamydia psittaci* infections. *Canad. J. Microbiol.*, 38, 1992, č. 11, s. 848—852.
- Petit-jean J., Vincent F., Fretigny M., Vabret A., Poveda J.D., Brun J., Freymuth F.:** Comparison of two serological methods and a polymerase chain reaction-enzyme immunoassay for the diagnosis of acute respiratory infections with *Chlamydia pneumoniae* in adults. *J. Med. Microbiol.*, 47, 1998, č. 7, s. 615—621.
- Sádecký E., Trávníček, M., Balaščík J., Brezina R., Kazár J., Úrvolgyi J., Flešár M., Čížnár J.:** Enzoootický potrat oviec v okrese Rožňava. *Vet. Med. (Praha)*, 23, 1978, č. 1, s. 25—28.
- Saikku P.:** Chlamydial serology. *Scand. J. Infect. Dis., Suppl.* 1992, 32, č. 5. 34—37.
- Schachter J., Grossman M., Azimi P.H.:** Serology of *Chlamydia trachomatis* in infants. *J. Infect. Dis.*, 146, 1982, č. 4, s. 530—535.
- Sodja I., Bruj J., Švecová M., Kadlečík D., Mrázová M.:** Herd immunity and role of *Chlamydia pneumoniae* in ethiology of respiratory diseases in the Czech republic. *Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 47, 1998, č. 1, s. 27—31.
- Verkooyen R.P.:** Diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease by microimmunofluorescence and ELISA. S. 95—107. In: Osterhaus A.D.M.E., Neijens H.J., Hoogsteden H.C. (Eds.): *Chlamydia pneumoniae: studies on an emerging pathogen*. Rotterdam, Thesis Erasmus University 1997.
- Věžník Z., Pospíšil L.:** Laboratorní diagnostika chlamýdióz. S. 25—40. In: Ježek P., Celer V. (Eds.): *Chlamýdiové infekce*. Brno, Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví 1997.
- Wang S.-P., Grayston J.T.:** Human serology in *Chlamydia trachomatis* with immunofluorescence. *J. Infect. Dis.*, 130, 1974, č. 4, s. 388—397.
- Wong K.H., Shelton S.K., Daugharty H.:** Utility of complement fixation and microimmunofluorescence assays for detecting serologic responses in patients with clinically diagnosed psittacosis. *J. Clin. Microbiol.*, 32, 1994, č. 10, s. 2417—2421.

Received January 9, 2000.

Accepted June 16, 2000.

*Táto práca bola podporená finančnými prostriedkami pridelenými agentúrou VEGA na projekt č. 4017.