

Immunoensayo de la Enzima para la Determinación Cualitativa de la Presencia de Anticuerpos Anti-Chlamydia trachomatis IgA en Suero Humano

Solo para diagnóstico In Vitro
Para uso exclusivo en laboratorios clínicos o de gabinete
Conservar entre 2°C a 8°C

RESUMEN Y PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Paso	Temp. ambiente 20 - 25°C	Volumen	Tiempo de incubación
1	Dilución de la muestra 1:40 (5µL / 200µL)		
2	Muestras diluidas, controles y calibrador	100 µL	30 minutos
3	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
4	Enzima conjugada	100 µL	30 minutos
5	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
6	TMB Substrato Cromogénico	100 µL	15 minutos
7	Solución de paro	100 µL	
8	Lectura a una densidad óptica de 450 nm		

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Chlamydia trachomatis es uno de los patógenos humanos más comunes. De los 15 serotipos reconocidos, 4 (A, B, Ba y C) han sido mostrados como la causa de tracoma hiperendémico, una enfermedad que aflige a cientos de millones de personas en países en vías de desarrollo. Tres serotipos (L-1, L-2, y L-3) son la causa de linfogranuloma venéreo (LGV), una enfermedad sistémica sexualmente transmitida. Los otros serotipos (D, K) han sido asociados con infecciones en tracto genital y casos esporádicos de conjuntivitis en sociedades industrializadas. Estos agentes son la mayor causa reconocida de uretritis no gonocócica en hombres, en algunos de ellos puede causar también epididimitis. En las mujeres, *Chlamydia trachomatis* causa cervicitis y ha sido asociada con salpingitis. Los infantes pueden llegar a ser infectados por el canal de nacimiento y luego desarrollarlo incluso con la conjuntivitis y con el síndrome de neumonía clamidial.

Los altos niveles de anticuerpos IgG anti-*Chlamydia* son de valor de diagnóstico en fase crónica o infecciones sistémicas como salpingitis, infertilidad, perihepatitis, epididimitis, síndrome de Reiter y neumonitis.

La prueba Chlamydia IgA Test Kit emplea el antígeno reactivo tipo 2 de LGV de *Chlamydia trachomatis*. Este detectará anticuerpos de *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia pneumoniae* (TWAR).

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La superficie de los micro pozos es revestida con el antígeno purificado de *Chlamydia trachomatis*. El suero del paciente diluido se agrega a los pozos, y el anticuerpo específico de *Chlamydia trachomatis* IgA, si está presente, se une al antígeno. Todos los materiales desunidos se lavan. Después de agregar el conjugado de la enzima, este se une al complejo del anticuerpo-antígeno. El exceso del conjugado de la enzima se lava

separado y el substrato cromogénico se agrega. La reacción catalítica del conjugado de la enzima es detenida en un momento específico. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad del anticuerpo específico IgA en la muestra. Los resultados son leídos por un lector de micropozos y comparado de una manera paralela con el calibrador y los controles.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba:

1. Placa con micropozos cubiertos de antígeno de *Chlamydia trachomatis* (12x8)
2. Diluyente de muestra. 1 Frasco
3. Calibrador: Valor del factor (f) indicado en la etiqueta. 1 Vial
4. Control Negativo: rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
5. Control Positivo: rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
6. Concentrado de lavado 20x. 1 Frasco
7. Enzima Conjugada. 1 Frasco
8. Substrato cromogénico TMB. 1 Frasco
9. Solución de Paro. 1 Frasco

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

1. Almacenaje del equipo de 2 a 8 °C.
2. Siempre mantenga los micropozos herméticamente sellados en la bolsa con el desecante. Recomendamos que use hasta agotar todos los pozos dentro de las 4 semanas después de la apertura inicial de la bolsa.
3. Los reactivos son estables hasta la fecha de expiración del equipo.
4. No exponer los reactivos al calor, sol o luz fuerte durante el almacenaje o uso.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

1. Materiales potencialmente bio-peligrosos: Los calibradores y controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y se han encontrado no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B así como el anticuerpo de HIV con los reactivos autorizados por la FDA. Sin embargo, como con cualquier método de prueba no se puede ofrecer una completa seguridad de que los virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén ausentes, estos reactivos deben manejar el Nivel 2 de Bio seguridad, como es recomendado en los Centers for Disease Control / National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories". 1984
2. No pipetear con la boca, no fumar, comer o beber en las áreas en que las muestras o equipos son manejados.
3. Se entiende que los componentes en este equipo son para el uso de una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben mezclarse.
4. Estos productos contienen componentes preservados con azida de sodio. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías para formar una azida metálica explosiva. En disposición, vacíe con un volumen grande de agua.

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPÉCIMEN

1. Recolecte la muestra y separe el suero.
2. Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8°C por hasta 7 días o congelados por hasta seis meses. Evite el congelado y descongelado repetitivo de la muestra de suero.

PREPARACIÓN PARA EL ENSAYO

1. Prepare buffer de lavado 1x. Añada agua destilada o desionizada al buffer concentrado 20x, para lograr un volumen final de 1 litro.
2. Traiga todas las muestras y reactivos del equipo de prueba a temperatura ambiente (20 a 25 °C) y mezcle cuidadosamente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Coloque el número deseado de tiras cubiertas dentro del soporte.
2. Prepare la dilución 1:40 añadiendo 5 µL de las muestras, control negativo, control positivo y calibrador por duplicado a 200 µL de diluyente de muestra. Mezcle bien.
3. Agregue 100 µL de suero diluido, calibradores y controles en los pozos apropiados. Para el blanco de reactivo, agregue 100 µL de diluyente de muestra en el pozo de la posición 1A. Golpee suavemente el soporte para remover las burbujas de aire del líquido y mezcle bien. Incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
4. Remueva el líquido de los pozos. Repetir el lavado tres veces con el buffer de lavado.
5. Agregue 100 µL de enzima conjugada a cada pozo e incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Remueva la enzima conjugada de los pozos. Repetir el lavado tres veces con buffer de lavado.
7. Agregue 100 µL de Substrato Cromogénico TMB a cada pozo e incubar por 15 minutos a temperatura ambiente.
8. Agregue 100 µL de Solución de paro para detener la reacción. **Nota: Asegurarse que no haya burbujas de aire en los pozos antes de la lectura.**
9. Lea a 450 nm de DO (Densidad óptica) con un lector de micro pozos.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Para obtener el valor del Cut-off, multiplique la D.O. del calibrador por el factor (f) impreso en la etiqueta del calibrador.
2. Calcule el índice IgA para cada determinación dividiendo los valores de las densidades ópticas de cada muestra obtenida entre el valor obtenido del Cut-off.

Ejemplo:

- Valor del factor impreso en la etiqueta (f) = 0.4
Calibrador D.O. = 1.100
Cut off D.O. = 1.100 x 0.4 = 0.44 (Index IgA = 1)
- Muestra del paciente D.O. = 0.580
IgA Index = 0.580 / 0.44 = 1.32 (Resultado Positivo)
- Muestra del paciente D.O. = 0.320
IgA Index = 0.320 / 0.44 = 0.73 (Resultado Negativo)

CONTROL DE CALIDAD

La corrida puede ser considerada válida si reúne los siguientes criterios:

1. El valor de la D.O. (Densidad óptica) del blanco del reactivo contra el aire de un lector de micro pozos debe ser menor de 0.150
2. Si el valor de la D.O. del calibrador es más bajo que 0.250, la prueba no es válida y debe repetirse.
3. El índice IgA para el control negativo y positivo deben estar en el rango indicado en las etiquetas.

INTERPRETACIÓN

- **NEGATIVO:** Índice IgA de 0.90 o menos es seronegativo para el anticuerpo de IgA
- **INDETERMINADO:** Índice IgA de 0.91-0.99 es indeterminado. La muestra debe ser analizada de nuevo.
- **POSITIVO:** Índice IgA de 1.00 o mayor.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y EXACTITUD

La sensibilidad, especificidad y exactitud fueron evaluadas utilizando un equipo de ELISA comercial con 40 muestras. La correlación de los resultados, se encuentra resumida en la siguiente tabla:

		ELISA de Referencia		
		N	P	Total
CHLAMYDIA IgA Test	N	33 (D)	0 (B)	33
	P	2 (C)	5 (A)	7
	Total	35	5	40

Sensibilidad = $A / (A + B) = 5 / (5 + 0) = 100\%$

Especificidad = $D / (C + D) = 33 / (32 + 2) = 94\%$

Exactitud (acuerdo total) = $(A + D) / (A+B+C+D) = 38 / 40 = 95\%$

PRECISIÓN

La precisión de este ensayo fue evaluada probando 3 diferentes sueros con 8 réplicas durante 3 días. El CV del intra-ensayo e inter-ensayo se encuentra resumido a continuación:

	N=8	Negativo	Bajo positivo	Positivo
Intra-ensayo		13.5%	11.8%	8.1%
Inter-ensayo		15.4%	13.2%	10.2%

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Una sola muestra de suero no se puede utilizar para determinar infección reciente.
2. Una muestra tomada en una etapa temprana durante la fase aguda de la infección puede contener niveles bajos de anticuerpos IgA y puede dar un resultado de Index IgA negativo.
3. Como en otras pruebas serológicas, los resultados de estos ensayos deben ser usados en conjunto con la información disponible de la evaluación clínica y otros procedimientos de diagnóstico.

REFERENCIAS

1. Schachter, J. 1978. Chlamydial infections. N. Engl. J. Med. 298: 428-435, 490-495, 540-549.
2. Sarov, I., Kleinman, D., Cevenini, R., Holoberg, G., Potashnik, G. Sarov, B. and Insler, V. (1986). Specific IgG and IgA Antibodies to Chlamydia trachomatis in Infertile Women: Int. J. Fertil 31: 193-197.
3. Kaneti, J. et al. (1988). IgG and IgA Antibodies specific for Chlamydia trachomatis in Acute Epididymitis. Europ. Urol. 14: 323-327.
4. Kletter, Y., Caspi, D., Yarom, M., Sarov, B., Sarov, I. And Tanay, A. Serum IgA and IgG Antibodies Specific to Chlamydia in Patients with Reiter's Syndrome (RS). In: Proceedings of The European Society for Chlamydia Research, Societa Editrice Esculapio, Bologna. 1988. P. 170.
5. Paran, H., Heimer, D. and Sarov, I. (1986). Serological, Clinica and Radiological Findings in Adults with Bronchopulmonary Infections caused by Chlamydia trachomatis. Isr. J. Med. Sci. 22: 823-827.

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS
1155 CHESS DRIVE No. 121
FOSTER CITY, CA 94404 USA