

**Inmunoensayo de la Enzima para la Determinación Cualitativa de la Presencia de Anticuerpos IgG Anti-Chlamydia trachomatis 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 trachoma 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 de ELISA CHLAMYDIA IgG TEST KIT emplea el tipo 2 de LGV antígeno reactivo 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* IgG, 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 IgG 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 de micropozos cubiertos de antígeno de *Chlamydia trachomatis* (12x8)
2. Diluyente de la 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. Solución Lavado Concentrado 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 MANEJO DEL ESPÉCIMEN

1. Recolecte muestras sanguíneas y separe el suero.
2. Los especímenes pueden ser refrigerados a 2-8°C por hasta siete días o congelados por hasta seis meses. Evite el congelado y descongelado repetitivo de la muestra de suero.

## PREPARACIÓN PARA EL ENSAYO

1. Prepare solución amortiguadora de lavado 1x. Agregar agua destilada o desionizada a la solución de lavado concentrado 20x para obtener un volumen final de 1 litro.
2. Ponga todos los especímenes y reactivos del equipo de prueba a temperatura ambiente (20 - 25°C) y mezcle suavemente.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Colocar el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
2. Preparar una dilución 1:40 de las muestras de prueba, control negativo, control positivo y calibrador al agregar 5 µL de la muestra a 200 µL del diluyente de muestra. Mezcle bien.
3. Dispensar 100 µL de suero diluido, calibrador, y controles en los pocillos apropiados. Para el blanco de reactivo, vierta 100 µL de diluyente de muestra en la posición del pozo A1. Mezcle e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
4. Retirar el líquido de todos los pocillos y repita el lavado tres veces con el buffer de lavado.
5. Dispensar 100 µL de enzima conjugada a cada pocillo e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Retirar la enzima conjugada de todos los pozos. Repita el lavado 3 veces con el buffer de lavado.
7. Dispensar 100 µL de TMB substrato cromogénico a cada pocillo e incube por 15 minutos a temperatura ambiente.
8. Dispensar 100 µL de solución de paro para detener la reacción. *Nota: Asegúrese que no existan burbujas de aire en cada pozo antes de la lectura.*
9. Leer a 450 nm D.O. 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 IgG 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 (Índice IgG = 1)

Muestra del paciente D.O. = 0.580

IgG Index = 0.580 / 0.44 = 1.32 (Resultado Positivo)

Muestra del paciente D.O. = 0.320

IgG Index = 0.320 / 0.44 = 0.73 (Resultado Negativo)

## CONTROL DE CALIDAD

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

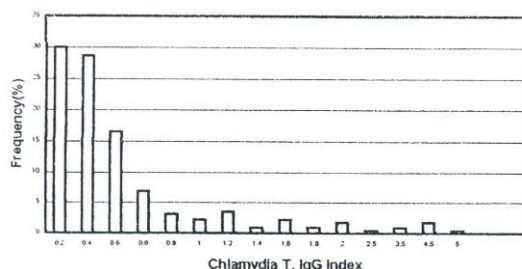
1. El valor de la D.O. (Densidad óptica) del blanco del reactivo contra el aire de un lector de micropozos debe ser menor de 0.150
2. Si el valor de la D.O. del calibrador es más bajo que 0.250, la prueba no es válida y debe repetirse.
3. El índice IgG para el control negativo y positivo deben estar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

## INTERPRETACIÓN

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

Valores esperados: 230 muestras fueron determinadas con la ELISA de internacional Immuno-Diagnostics. Chlamydia trachomatis IgG. Los resultados de la prueba fueron computados como IgG usando un suero escogido de referencia (cut-off) como índice 1 IgG. La distribución de frecuencia contra el índice IgG es presentado como lo siguiente: 29 fueron encontrados positivos (12.6%) y 196 fueron encontrados negativos (85.2%)

Histograma de Chlamydia t. Índice IgG Total de muestras n=230



## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

### SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

La sensibilidad, especificidad y exactitud fueron evaluadas utilizando un kit comercial disponible en 104 muestras. Los resultados se muestran a continuación:

		Referencia ELISA		
		N	P	Total
MICRO-POZOS DE ELISA	N	69 (D)	3 (B)	72
	P	1 (C)	31 (A)	32
	Total	70	34	104

Sensibilidad =  $A / (A+B) = 31 / (31+3) = 91.1\%$

Especificidad =  $69 / (69 + 1) = 98.5\%$

Exactitud =  $(A+D) / (A+B+C+D) = 100 / 104 = 96.1\%$

### PRECISIÓN

La precisión del ensayo fue evaluada probando tres diferentes sueros 8 replicas en 3 días. el C.V. inter e intraensayo se muestra a continuación:

	Negativo	Positivo Bajo	Positivo
Intra-ensayo	10.9%	10.5%	8.9%
Inter-ensayo	12.3%	11.1%	10.5%

### REACTIVIDAD CRUZADA

Un estudio fue llevado a cabo para determinar la reactividad cruzada de la prueba al siguiente anticuerpo:

1. IgG del EBV, Paperas, Sarampión y VZV.
2. IgG and IgM de Rubéola, Toxo, CMV, HSV1 y HSV2.
3. IgM de FR
4. IgG de Ana, anti-ds DNA

Todas las muestras positivas probadas dieron resultados negativos.

---

## 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 actual puede contener bajos niveles de anticuerpos IgG y dar un resultado negativo en el índice IgG.
3. Como con 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, Clinical 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