

Chlamydia trachomatis IgG

**Enzyme Immunoassay (ELISA) for the
quantitative determination of IgG antibodies
specific to Chlamydia trachomatis
in human serum and plasma**

- for “in vitro” diagnostic use only -



DIA.PRO

**Diagnostic Bioprobes Srl
Via G. Carducci n° 27
20099 Sesto San Giovanni
(Milano) - Italy**

Phone +39 02 27007161

Fax +39 02 44386771

e-mail: info@diapro.it

C.trachomatis IgG

A. INTENDED USE

Enzyme ImmunoAssay (ELISA) for the quantitative determination of IgG antibodies specific to Chlamydia trachomatis in human plasma and sera.

The kit is intended for the follow up of patients undergoing a Chlamydia trachomatis infection.

For in vitro diagnostic use only.

B. INTRODUCTION

Chlamydia trachomatis is a bacterium-like obligate intracellular organism that counts at least 15 recognized serotypes. C.trachomatis is one of the three distinct species within the genus Chlamydia (trachomatis, psittaci and pneumoniae).

C.trachomatis infection in adults is responsible of most of sexually acquired urethritis in men, mucopurulent cervicitis in women, pelvic inflammatory disease, lymphogranuloma venereum, most of acute urethral syndromes, ocular infections, proctocolitis and epididymitis. In infants, the organism is responsible of pneumonia and conjunctivitis.

Infections due to C.trachomatis stimulates the patient to generate a strong immunological response both in IgG, lasting a long time, and IgA, whose presence is more correlated with an ongoing infection or a recent event.

The determination of species-specific IgG, IgA and IgM is a helpful tool for the clinician to identify the infective agent and to decide the right therapy.

C. PRINCIPLE OF THE ASSAY

Microplates are coated with an immunodominant species-specific polypeptide derived from Chlamydia trachomatis major outer-membrane antigen (MOMP), that makes the assay very specific for C.trachomatis (no cross reaction with C.pneumoniae).

In the 1st incubation, the solid phase is treated with diluted samples and anti-C.trachomatis IgG are captured, if present, by the solid phase.

After washing out all the other components of the sample, in the 2nd incubation bound anti-C.trachomatis IgG are detected by the addition of anti hlgG antibody, labelled with peroxidase (HRP).

The enzyme captured on the solid phase, acting on the substrate/chromogen mixture, generates an optical signal that is proportional to the amount of anti-C.trachomatis IgG antibodies present in the sample. IgG in the sample may be quantitated by means of a standard curve calibrated in arbitrary units per milliliter (Uarb/ml) as no international standard is available.

D. COMPONENTS

Each kit contains sufficient reagents to perform 96 tests.

1. Microplate: MICROPLATE

12 strips x 8 breakable wells coated with purified C.trachomatis polypeptide *in presence of bovine proteins*. Plates are sealed into a bag with desiccant. Allow the microplate to reach room temperature before opening; reseal unused strips in the bag with desiccant and store at 4°C.

2. Calibration Curve: CAL N° ...

Ready to use and color coded standard curve derived from human plasma positive for Chlamydia Trachomatis IgG and titrated on an Internal Gold Standard ranging :

4ml CAL1 = 0 arbU/ml

4ml CAL2 = 5 arbU/ml

2ml CAL3 = 10 arbU/ml

2ml CAL4 = 20 arbU/ml

2ml CAL 5 = 50 arbU/ml

4ml CAL6 = 100 arbU/ml.

Standards are calibrated against an internal Gold Standard or IGS as no international one is defined.

Contains human serum proteins, 2% casein, 10 mM Na-citrate buffer pH 6.0 +/-0.1, 0.1% Tween 20, 0.09% Na-azide and 0.045% ProClin 300 as preservatives. Standards are blue color coded.

3. Wash buffer concentrate: WASHBUF 20X

1x60ml/bottle20x concentrated solution. Once diluted, the wash solution contains 10 mM phosphate buffer pH 7.0+/-0.2, 0.05% Tween 20 and 0.045% ProClin 300.

5. Enzyme conjugate: CONJ

1x16ml/vial. Ready to use and red colour coded. It contains Horseradish peroxidase conjugated goat polyclonal antibodies to human IgG, 5% BSA, 10 mM Tris buffer pH 6.8+/-0.1, 0.045% ProClin 300 and 0.02% gentamicine sulphate as preservatives.

6. Chromogen/Substrate: SUBS TMB

1x16ml/vial. It contains 50 mM citrate-phosphate buffer pH 3.5-3.8, 4% dimethylsulphoxide, 0.03% tetra-methyl-benzidine (or TMB) and 0.02% hydrogen peroxide (or H₂O₂).

Note: To be stored protected from light as sensitive to strong illumination.

7. Sulphuric Acid: H2SO4 0.3 M

1x15ml/vialIt contains 0.3 M H₂SO₄ solution.

Attention: Irritant (H315, H319; P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

8. Specimen Diluent: DILSPE

2x60ml/vial. It contains 2% casein, 10 mM Na-citrate buffer pH 6.0 +/-0.1, 0.1% Tween 20, 0.09% Na-azide and 0.045% ProClin 300 as preservatives. To be used to dilute the sample.

Blue color coded.

9. Plate sealing foils n°2

10. Package insert n°1

E. MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Calibrated Micropipettes (1000, 100 and 10ul) and disposable plastic tips.
2. EIA grade water (bidistilled or deionised, charcoal treated to remove oxidizing chemicals used as disinfectants).
3. Timer with 60 minute range or higher.
4. Absorbent paper tissues.
5. Calibrated ELISA microplate thermostatic incubator (dry or wet) set at +37°C (+/-0.5°C tolerance).
6. Calibrated ELISA microwell reader with 450nm (reading) and with 620-630nm (blanking) filters.
7. Calibrated ELISA microplate washer.
8. Vortex or similar mixing tools.

F. WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. The kit has to be used by skilled and properly trained technical personnel only, under the supervision of a medical doctor responsible of the laboratory.
2. All the personnel involved in performing the assay have to wear protective laboratory clothes, talc-free gloves and glasses. The use of any sharp (needles) or cutting (blades) devices should be avoided. All the personnel involved should be trained in biosafety procedures, as recommended by the Center for Disease Control, Atlanta, U.S. and reported in the

Doc.:	INS CTG.CE/Eng	Page	3 of 8	Rev.:	3	Date:	2020/03
-------	----------------	------	--------	-------	---	-------	---------

National Institute of Health's publication: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.

3. All the personnel involved in sample handling should be vaccinated for HBV and HAV, for which vaccines are available, safe and effective.

4. The laboratory environment should be controlled so as to avoid contaminants such as dust or air-borne microbial agents, when opening kit vials and microplates and when performing the test. Protect the Chromogen (TMB) from strong light and avoid vibration of the bench surface where the test is undertaken.

5. Upon receipt, store the kit at 2..8°C into a temperature controlled refrigerator or cold room.

6. Do not interchange components between different lots of the kits. It is recommended that components between two kits of the same lot should not be interchanged.

7. Check that the reagents are clear and do not contain visible heavy particles or aggregates. If not, advise the laboratory supervisor to initiate the necessary procedures for kit replacement.

8. Avoid cross-contamination between serum/plasma samples by using disposable tips and changing them after each sample. Do not reuse disposable tips.

9. Avoid cross-contamination between kit reagents by using disposable tips and changing them between the use of each one. Do not reuse disposable tips.

10. Do not use the kit after the expiration date stated on the external container and internal (vials) labels. A study conducted on an opened kit did not pointed out any relevant loss of activity up to six uses of the device and up to 3 months.

11. Treat all specimens as potentially infective. All human serum specimens should be handled at Biosafety Level 2, as recommended by the Center for Disease Control, Atlanta, U.S. in compliance with what reported in the Institutes of Health's publication: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.

12. The use of disposable plastic-ware is recommended in the preparation of the liquid components or in transferring components into automated workstations, in order to avoid cross contamination.

13. Waste produced during the use of the kit has to be discarded in compliance with national directives and laws concerning laboratory waste of chemical and biological substances. In particular, liquid waste generated from the washing procedure, from residuals of controls and from samples has to be treated as potentially infective material and inactivated before waste. Suggested procedures of inactivation are treatment with a 10% final concentration of household bleach for 16-18 hrs or heat inactivation by autoclave at 121°C for 20 min..

14. Accidental spills from samples and operations have to be adsorbed with paper tissues soaked with household bleach and then with water. Tissues should then be discarded in proper containers designated for laboratory/hospital waste.

15. The Sulphuric Acid is an irritant. In case of spills, wash the surface with plenty of water

16. Other waste materials generated from the use of the kit (example: tips used for samples and controls, used microplates) should be handled as potentially infective and disposed according to national directives and laws concerning laboratory wastes.

G. SPECIMEN: PREPARATION AND WARNINGS

1. Blood is drawn aseptically by venepuncture and plasma or serum is prepared using standard techniques of preparation of samples for clinical laboratory analysis. No influence has been observed in the preparation of the sample with citrate, EDTA and heparin.

2. Samples have to be clearly identified with codes or names in order to avoid misinterpretation of results. Bar code labeling and electronic reading is strongly recommended.

3. Haemolysed ("red") and visibly hyperlipemic ("milky") samples have to be discarded as they could generate false results. Samples containing residues of fibrin or heavy particles or microbial filaments and bodies should be discarded as they could give rise to false results.

4. Sera and plasma can be stored at +2°...+8°C in primary collection tubes for up to five days after collection. Do not freeze primary tubes of collection. For longer storage periods, sera and plasma samples, carefully removed from the primary collection tube, can be stored frozen at -20°C for at least 12 months. Any frozen samples should not be frozen/thawed more than once as this may generate particles that could affect the test result.

5. If particles are present, centrifuge at 2.000 rpm for 20 min or filter using 0.2-0.8u filters to clean up the sample for testing.

H. PREPARATION OF COMPONENTS AND WARNINGS

Microplate:

Allow the microplate to reach room temperature (about 1 hr) before opening the container. Check that the desiccant is not turned to dark green, indicating a defect of manufacturing.

In this case call Dia.Pro's customer service.

Unused strips have to be placed back into the aluminium pouch, in presence of desiccant supplied, firmly zipped and stored at +2°..8°C. When opened the first time, residual strips are stable till the indicator of humidity inside the desiccant bag turns from yellow to green.

Calibration Curve

Ready to use component. Mix carefully on vortex before use.

Wash buffer concentrate:

The whole content of the concentrated solution has to be diluted 20x with bidistilled water and mixed gently end-over-end before use. During preparation avoid foaming as the presence of bubbles could impact on the efficiency of the washing cycles.

Note: Once diluted, the wash solution is stable for 1 week at +2..8° C.

Enzyme conjugate:

Ready to use. Mix well on vortex before use.

Be careful not to contaminate the liquid with oxidizing chemicals, air-driven dust or microbes.

If this component has to be transferred use only plastic, possibly sterile disposable containers.

Chromogen/Substrate:

Ready to use. Mix well on vortex before use.

Be careful not to contaminate the liquid with oxidizing chemicals, air-driven dust or microbes.

Do not expose to strong illumination, oxidizing agents and metallic surfaces.

If this component has to be transferred use only plastic, possible sterile disposable container

Sample Diluent

Ready to use component. Mix carefully on vortex before use.

Sulphuric Acid:

Ready to use. Mix well on vortex before use.

Attention: Irritant (H315, H319; P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

Legenda:

Warning H statements:

H315 – Causes skin irritation.

H319 – Causes serious eye irritation.

Precautionary P statements:

P280 – Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P302 + P352 – IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.

P332 + P313 – If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

P305 + P351 + P338 – IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P337 + P313 – If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

P362 + P363 – Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

I. INSTRUMENTS AND TOOLS USED IN COMBINATION WITH THE KIT

1. Micropipettes have to be calibrated to deliver the correct volume required by the assay and must be submitted to regular decontamination (household alcohol, 10% solution of bleach, hospital grade disinfectants) of those parts that could accidentally come in contact with the sample. They should also be regularly maintained in order to show a precision of 1% and a trueness of $\pm 2\%$. Decontamination of spills or residues of kit components should also be carried out regularly.
2. The ELISA incubator has to be set at $+37^{\circ}\text{C}$ (tolerance of $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$) and regularly checked to ensure the correct temperature is maintained. Both dry incubators and water baths are suitable for the incubations, provided that the instrument is validated for the incubation of ELISA tests.
3. The **ELISA washer** is extremely important to the overall performances of the assay. The washer must be carefully validated in advance, checked for the delivery of the right dispensation volume and regularly submitted to maintenance according to the manufacturer's instructions for use. In particular the washer, at the end of the daily workload, has to be extensively cleaned out of salts with deionized water. Before use, the washer has to be extensively primed with the diluted Washing Solution. The instrument weekly has to be submitted to decontamination according to its manual (NaOH 0.1 M decontamination suggested).
5 washing cycles (aspiration + dispensation of 350ul/well of washing solution + 20 sec soaking = 1 cycle) are sufficient to ensure the assay with the declared performances. If soaking is not possible add one more cycle of washing.
An incorrect washing cycle or salt-blocked needles are the major cause of false positive reactions.
4. Incubation times have a tolerance of $\pm 5\%$.
5. The ELISA microplate reader has to be equipped with a reading filter of 450nm and with a second filter (620-630nm, mandatory) for blanking purposes. Its standard performances should be (a) bandwidth $\leq 10\text{ nm}$; (b) absorbance range from 0 to ≥ 2.0 ; (c) linearity to ≥ 2.0 ; repeatability $\geq 1\%$. Blanking is carried out on the well identified in the section "Assay Procedure". The optical system of the reader has to be calibrated regularly to ensure that the correct optical density is measured. It should be regularly maintained according to the manufacturer's instructions.
6. When using an ELISA automated work station, all critical steps (dispensation, incubation, washing, reading, data handling) have to be carefully set, calibrated, controlled and regularly serviced in order to match the values reported in the section "Internal Quality Control". The assay protocol has to be installed in the operating system

of the unit and validated as for the washer and the reader. In addition, the liquid handling part of the station (dispensation and washing) has to be validated and correctly set. Particular attention must be paid to avoid carry over by the needles used for dispensing and for washing. This must be studied and controlled to minimize the possibility of contamination of adjacent wells. The use of ELISA automated work stations is recommended when the number of samples to be tested exceed 20-30 units per run.

7. Dia.Pro's customer service offers support to the user in the setting and checking of instruments used in combination with the kit, in order to assure compliance with the requirements described. Support is also provided for the installation of new instruments to be used with the kit.

L. PRE ASSAY CONTROLS AND OPERATIONS

1. Check the expiration date of the kit printed on the external label (primary container). Do not use if expired.
2. Check that the liquid components are not contaminated by visible particles or aggregates.
3. Check that the Chromogen (TMB) is colourless or pale blue by aspirating a small volume of it with a sterile plastic pipette.
4. Check that no breakage occurred in transportation and no spillage of liquid is present inside the box (primary container). Check that the aluminium pouch, containing the microplate, is not punctured or damaged.
5. Dilute all the content of the 20x concentrated Wash Solution as described above.
6. Allow all the other components to reach room temperature (about 1 hr) and then mix gently on vortex all liquid reagents.
7. Set the ELISA incubator at $+37^{\circ}\text{C}$ and prepare the ELISA washer by priming with the diluted washing solution, according to the manufacturers instructions. Set the right number of washing cycles as reported in the specific section.
8. Check that the ELISA reader is turned on or ensure it will be turned on at least 20 minutes before reading.
9. If using an automated work station, turn on, check settings and be sure to use the right assay protocol.
10. Check that the micropipettes are set to the required volume.
11. Check that all the other equipment is available and ready to use.
12. In case of problems, do not proceed further with the test and advise the supervisor.

M. ASSAY PROCEDURE

The assay has to be carried out according to what reported below, taking care to maintain the same incubation time for all the samples in testing.

The kit may be used for quantitative and qualitative determinations as well.

M1. QUANTITATIVE DETERMINATION:

1. Dilute samples 1:101 into a properly defined dilution tube (example: 1000 μl Sample Diluent + 10 μl sample). Do not dilute the Calibration Set as calibrators are ready to use. Mix carefully all the liquid components on vortex and then proceed as described below.
2. Place the required number of Microwells in the microwell holder. Leave the A1 and B1 empty for the operation of blanking.
3. Then dispense 100 μl of Calibrators in duplicate. Then dispense 100 μl of diluted samples in each properly identified well.
4. Incubate the microplate for **60 min at $+37^{\circ}\text{C}$** .

Important note: Strips have to be sealed with the adhesive sealing foil, supplied, only when the test is carried out manually. Do not cover strips when using ELISA automatic instruments.

- Wash the microplate with an automatic washer reported previously (section I.3).
- Pipette 100 µl Enzyme Conjugate into each well, except A1+B1 blanking wells, and cover with the sealer. Check that this red coloured component has been dispensed in all the wells, except A1 and B1.

Important note: Be careful not to touch the plastic inner surface of the well with the tip filled with the Enzyme Conjugate. Contamination might occur.

- Incubate the microplate for **60 min at +37°C**.
- Wash microwells as in step 5.
- Pipette 100 µl Chromogen/Substrate mixture into each well, the blank wells A1 and B1 included. Then incubate the microplate at **room temperature (18-24°C) for 20 minutes**.

Important note: Do not expose to strong direct illumination. High background might be generated.

- Pipette 100 µl Sulphuric Acid to stop the enzymatic reaction into all the wells using the same pipetting sequence as in step 9. Addition of acid will turn the positive calibrators, the control serum and the positive samples from blue to yellow.
- Measure the colour intensity of the solution in each well, as described in section I.5, at 450nm filter (reading) and at 620-630nm (background subtraction, mandatory), blanking the instrument on A1 or B1 or both.

M2. QUALITATIVE DETERMINATION

If only a qualitative determination is required, proceed as described below:

- Dilute samples 1:101 into a properly defined dilution tube (example: 1000 µl Sample Diluent + 10 µl sample). Do not dilute the Calibration Set as calibrators are ready to use. Mix carefully all the liquid components on vortex and then proceed as described below.
- Place the required number of Microwells in the microwell holder. Leave A1 well empty for the operation of blanking.
- Dispense 100 µl of Calibrator 0 arbU/ml and Calibrator 5 arbU/ml in duplicate and Calibrator 100 arbU/ml in single. Then dispense 100 µl of diluted samples in each properly identified well.
- Incubate the microplate for **60 min at +37°C**.

Important note: Strips have to be sealed with the adhesive sealing foil, supplied, only when the test is carried out manually. Do not cover strips when using ELISA automatic instruments.

- Wash the microplate with an automatic washer as reported previously (section I.3).
- Pipette 100 µl Enzyme Conjugate into each well, except the A1 well, and cover with the sealer. Check that this red coloured component has been dispensed in all the wells, except A1.

Important note: Be careful not to touch the plastic inner surface of the well with the tip filled with the Enzyme Conjugate. Contamination might occur.

- Incubate the microplate for **60 min at +37°C**.
- Wash microwells as in step 5.

- Pipette 100 µl Chromogen/Substrate mixture into each well, the blank well included. Then incubate the microplate at **room temperature (18-24°C) for 20 minutes**.

Important note: Do not expose to strong direct illumination. High background might be generated.

- Pipette 100 µl Sulphuric Acid into all the wells using the same pipetting sequence as in step 9. Addition of acid will turn the positive calibrators, the control serum and the positive samples from blue to yellow.
- Measure the colour intensity of the solution in each well, as described in section I.5, at 450nm filter (reading) and at 620-630nm (background subtraction, mandatory), blanking the instrument on A1.

General Important notes:

- Ensure that no finger prints are present on the bottom of the microwell before reading. Finger prints could generate false positive results on reading.
- Reading has to be carried out just after the addition of the Stop Solution and anyway not any longer than 20 minutes after its addition. Some self oxidation of the chromogen can occur leading to high background.

N. ASSAY SCHEME

Method	Operations
Calibrators	100 µl
Samples diluted 1:101	100 µl
1st incubation	60 min
Temperature	+37°C
Wash step	n° 5 cycles with 20" of soaking OR n° 6 cycles without soaking
Enzyme conjugate	100 µl
2nd incubation	60 min
Temperature	+37°C
Wash step	n° 5 cycles with 20" of soaking OR n° 6 cycles without soaking
TMB/H ₂ O ₂	100 µl
3rd incubation	20 min
Temperature	r.t.
Sulphuric Acid	100 µl
Reading OD	450nm/620-630nm

An example of dispensation scheme for Quantitative Analysis is reported below:

Microplate												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLK	CAL4	S3									
B	BLK	CAL4	S4									
C	CAL1	CAL5	S5									
D	CAL1	CAL5	S6									
E	CAL2	CAL6	S7									
F	CAL2	CAL6	S8									
G	CAL3	S1	S9									
H	CAL3	S2	S10									

Legenda: BLK = Blank CAL = Calibrator
CS = Control Serum S = Sample

An example of dispensation scheme in qualitative assays is reported below:

Microplate												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLK	S 3	S11									
B	CAL1	S 4	S12									
C	CAL1	S 5	S13									
D	CAL2	S 6	S14									
E	CAL2	S 7	S15									
F	CAL6	S 8	S16									
G	S1	S 9	S17									
H	S2	S10	S18									

Legenda: BLK = Blank
S = Sample
CAL = Calibrators

O. INTERNAL QUALITY CONTROL

A validation check is carried out on the calibrators any time the kit is used in order to verify whether the performances of the assay are as qualified.

Control that the following data are matched:

Check	Requirements
Blank well	< 0.150 OD450nm value
CAL 1 0 arbU/ml	< 0.200 mean OD450nm value after blanking coefficient of variation < 30%
CAL 2 5 arbU/ml	OD450nm > OD450nm CAL1 + 0.100
CAL 6 100 arbU/ml	OD450nm > 1.000

If the results of the test match the requirements stated above, proceed to the next section.

If they do not, do not proceed any further and operate as follows:

Problem	Check
Blank Well > 0.150	1. that the Chromogen/Sustrate solution has not got contaminated during the assay
CAL 1 0 arbU/ml > 0.200 OD450nm after blanking coefficient of variation > 30%	1. that the washing procedure and the washer settings are as validated in the pre qualification study; 2. that the proper washing solution has been used and the washer has been primed with it before use; 3. that no mistake has been done in the assay procedure (dispensation of a positive calibrator instead of the negative one); 4. that no contamination of the negative calibrator or of their wells has occurred due spills of positive samples or the enzyme conjugate; 5. that micropipettes haven't got contaminated with positive samples or with the enzyme conjugate 6. that the washer needles are not blocked or partially obstructed.
CAL 2 5 arbU/ml OD450nm < OD450nm CAL1 + 0.100	1. that the procedure has been correctly executed; 2. that no mistake has been done in its distribution (ex.: dispensation of a wrong calibrator instead); 3. that the washing procedure and the washer settings are as validated in the pre qualification study; 4. that no external contamination of the calibrator has occurred.
CAL 6 100 arbU/ml < 1.000 OD450nm	1. that the procedure has been correctly executed; 2. that no mistake has been done in its distribution (dispensation of a wrong calibrator instead);

3. that the washing procedure and the washer settings are as validated in the pre qualification study;
4. that no external contamination of the positive control has occurred.

Should one of these problems have happened, after checking, report to the supervisor for further actions.

Important note:

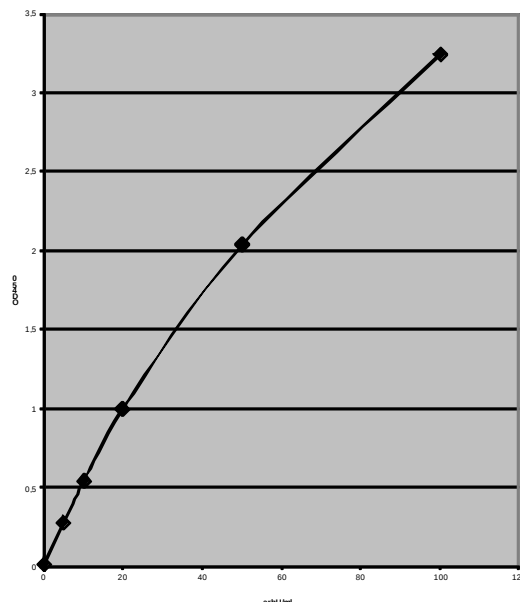
The analysis must be done proceeding as the reading step described in the section M, point 11.

P. RESULTS

P.1 Quantitative method

If the test turns out to be valid, use for the quantitative method an approved curve fitting program to draw the calibration curve from the values obtained by reading at 450nm/620-630nm (4-parameters interpolation is suggested). Then on the calibration curve calculate the concentration of anti C.trachomatis IgG antibody in samples.

An example of Calibration curve is reported below.



Important Note:

Do not use the calibration curve above to make calculations.

P.2 Qualitative method

In the qualitative method, calculate the mean OD450nm/620-630nm values for the Calibrators 0 and 5 arbU/ml and then check that the assay is valid.

Example of calculation (data obtained proceeding as the the reading step described in the section M, point 11):

Note: The following data must not be used instead of real figures obtained by the user.

Calibrator 0 arbU/ml: 0.020 – 0.024 OD450nm
Mean Value: 0.022 OD450nm
Lower than 0.150 – Accepted
Calibrator 5 arbU/ml: 0.250 – 0.270 OD450nm
Mean Value: 0.260 OD450nm
Higher than Cal 0 + 0.100 – Accepted

Calibrator 100 arbU/ml: 2.045 OD450nm
Higher than 1.000 – Accepted

The OD450nm/620-630nm of the Calibrator 5 arbU/ml is considered the cut-off (or Co) of the system.

The ratio between the OD450nm/620-630nm value of the sample and the OD450nm/620-630nm of the Calibrator 5 arbU/ml (or S/Co) can provide a semi-quantitative estimation of the content of specific anti C.trachomatis in the sample.

Q. INTERPRETATION OF RESULTS

Samples with a concentration lower than 5 arbU/ml are considered negative for anti C.trachomatis IgG antibody. Samples with a concentration higher than 5 arbU/ml are considered positive for anti C.trachomatis IgG antibody.

Important notes:

1. Results of this test alone are not enough to provide a clear diagnosis of Chlamydia trachomatis infection. Other diagnostic tests (example PCR) should be carried out.
2. Interpretation of results should be done under the supervision of the laboratory supervisor to reduce the risk of judgment errors and misinterpretations.
3. When test results are transmitted from the laboratory to another facility, attention must be paid to avoid erroneous data transfer.
4. Diagnosis has to be done and released to the patient by a suitably qualified medical doctor.

R. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Evaluation of Performances has been conducted on panels of positive and negative samples with reference to a CE marked reference kit.

1. Limit of detection

No international standard for C.trachomatis IgG antibody detection has been defined so far by the European Community.

In its absence, an Internal Gold Standard (or IGS), derived from a patient with an history of past infection, has been defined in order to provide the device with a constant and excellent sensitivity.

2. Diagnostic Sensitivity and Specificity:

The diagnostic performances were evaluated on samples supplied by an external center, with excellent experience in the diagnosis of infectious diseases.

The diagnostic **sensitivity** was studied on more than 100 samples, positive with the reference kit. Positive samples were collected from patients with a clinical history of Chlamydia trachomatis infection.

The diagnostic **specificity** was determined on panels of more than 100 negative samples from normal individuals and blood donors, classified negative with the reference kit, including potentially interfering specimens.

Both plasma, derived with different standard techniques of preparation (citrate, EDTA and heparin), and sera have been used to determine the specificity. No false reactivity due to the method of specimen preparation has been observed.

Frozen specimens have also been tested to check whether samples freezing interferes with the performance of the test. No interference was observed on clean and particle free samples.

The Performance Evaluation provided the following values :

Sensitivity	> 98 %
Specificity	> 98 %

3. Precision:

It has been calculated on three samples, a negative, a low positive and a high positive, examined in 16 replicates in three separate runs for three lots.

Results are reported as follows:

CTG.CE: lot P1

Calibrator 0 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	0.075	0.080	0.078	0.078
Std.Deviation	0.005	0.007	0.007	0.006
CV %	7.1	8.7	8.8	8.2

Calibrator 5 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	0.306	0.260	0.269	0.281
Std.Deviation	0.025	0.031	0.043	0.033
CV %	8.1	8.3	6.2	7.5

Calibrator 50 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	1.760	1.508	1.692	1.653
Std.Deviation	0.086	0.061	0.066	0.07
CV %	4.9	4.1	3.9	4.3

CTG.CE: lot P2

Calibrator 0 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	0.079	0.077	0.078	0.078
Std.Deviation	0.006	0.005	0.006	0.006
CV %	7.4	7.1	7.7	7.4

Calibrator 5 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	0.271	0.265	0.266	0.267
Std.Deviation	0.019	0.019	0.019	0.019
CV %	7.1	7.3	7.0	7.2

Calibrator 50 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	1.638	1.651	1.647	1.645
Std.Deviation	0.059	0.053	0.058	0.057
CV %	3.6	3.2	3.5	3.4

CTG.CE: lot P3

Calibrator 0 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	0.078	0.080	0.078	0.079
Std.Deviation	0.005	0.006	0.006	0.006
CV %	7.0	7.5	7.2	7.2

Calibrator 5 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	0.269	0.276	0.271	0.272
Std.Deviation	0.020	0.019	0.020	0.020
CV %	7.3	6.9	7.4	7.2

Calibrator 50 ArbU/ml (N = 16)

Mean values	1st run	2nd run	3 rd run	Average value
OD 450nm	1.578	1.595	1.608	1.594
Std.Deviation	0.053	0.049	0.054	0.052
CV %	3.3	3.1	3.4	3.3

The variability shown in the tables above did not result in sample misclassification.

4. Accuracy

The assay accuracy has been checked by the dilution and recovery tests. Any "hook effect", underestimation likely to happen at high doses of analyte, was ruled out.

Important note:

The performance data have been obtained proceeding as the reading step described in the section M, point 11.

S. LIMITATIONS

Bacterial contamination or heat inactivation of the specimen may affect the absorbance values of the samples with consequent alteration of the level of the analyte.

Frozen samples containing fibrin particles or aggregates after thawing may generate some false results.

This test is suitable only for testing single samples and not pooled ones.

Diagnosis of an infectious disease should not be established on the basis of a single test result. The patient's clinical history, symptomatology, as well as other diagnostic data should be considered.

T. REFERENCES

1. Bas S, Genevay S, Schenkel MC, Vischer TL. Importance of species-specific antigens in the serodiagnosis of Chlamydia trachomatis reactive arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2002 Sep;41(9):1017-20. PMID: 12209035 [PubMed - indexed for MEDLINE]
2. Marston EL, James AV, Parker JT, Hart JC, Brown TM, Messmer TO, Jue DL, Black CM, Carlone GM, Ades EW, Sampson J. Newly characterized species-specific immunogenic Chlamydia pneumoniae peptide reactive with murine monoclonal and human serum antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002 Mar;9(2):446-52. PMID: 11874892 [PubMed - indexed for MEDLINE]
3. Morré SA, Munk C, Persson K, Krüger-Kjaer S, van Dijk R, Meijer CJ, van Den Brule AJ. Comparison of three commercially available peptide-based immunoglobulin G (IgG) and IgA assays to microimmunofluorescence assay for detection of Chlamydia trachomatis antibodies. *J Clin Microbiol*. 2002 Feb;40(2):584-7. PMID: 11825974 [PubMed - indexed for MEDLINE]
4. Bas S, Muzzin P, Vischer TL. Chlamydia trachomatis serology: diagnostic value of outer membrane protein 2 compared with that of other antigens. *J Clin Microbiol*. 2001 Nov;39(11):4082-5. PMID: 11682533 [PubMed - indexed for MEDLINE]
5. Bas S, Muzzin P, Ninet B, Bornand JE, Scieux C, Vischer TL. Chlamydial serology: comparative diagnostic value of immunoblotting, microimmunofluorescence test, and immunoassays using different recombinant proteins as antigens. *J Clin Microbiol*. 2001 Apr;39(4):1368-77. PMID: 11283058 [PubMed - indexed for MEDLINE]

6. Klein M, Kötz A, Bernardo K, Krönke M. Detection of Chlamydia pneumoniae-specific antibodies binding to the VD2 and VD3 regions of the major outer membrane protein. *J Clin Microbiol*. 2003 May;41(5):1957-62. PMID: 12734234 [PubMed - indexed for MEDLINE]
7. Mygind P, Christiansen G, Persson K, Birkelund S. Detection of Chlamydia trachomatis-specific antibodies in human sera by recombinant major outer-membrane protein polyantigens. *J Med Microbiol*. 2000 May;49(5):457-65. PMID: 10798559 [PubMed - indexed for MEDLINE]
8. Jones CS, Maple PA, Andrews NJ, Paul ID, Caul EO. Measurement of IgG antibodies to Chlamydia trachomatis by commercial enzyme immunoassays and immunofluorescence in sera from pregnant women and patients with infertility, pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy, and laboratory diagnosed Chlamydia psittaci/Chlamydia pneumoniae infection. *J Clin Pathol*. 2003 Mar;56(3):225-9. PMID: 12610104 [PubMed - indexed for MEDLINE]
9. Portig I, Goodall JC, Bailey RL, Gaston JS. Characterization of the humoral immune response to Chlamydia outer membrane protein 2 in chlamydial infection. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003 Jan;10(1):103-7. PMID: 12522047 [PubMed - indexed for MEDLINE]
10. Bas S, Vischer TL. Chlamydia trachomatis antibody detection and diagnosis of reactive arthritis. *Br J Rheumatol*. 1998 Oct;37(10):1054-9. PMID: 9825743 [PubMed - indexed for MEDLINE]
11. Mygind P, Christiansen G, Persson K, Birkelund S. Analysis of the humoral immune response to Chlamydia outer membrane protein 2. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998 May;5(3):313-8. PMID: 9605983 [PubMed - indexed for MEDLINE]
12. Bas S, Scieux C, Vischer TL. Different humoral immune response to Chlamydia trachomatis major outer membrane protein variable domains I and IV in Chlamydia-infected patients with or without reactive arthritis. *Arthritis Rheum*. 1999 May;42(5):942-7. PMID: 10323449 [PubMed - indexed for MEDLINE]
13. Neuer A, Lam KN, Tiller FW, Kiesel L, Witkin SS. Humoral immune response to membrane components of Chlamydia trachomatis and expression of human 60 kDa heat shock protein in follicular fluid of in-vitro fertilization patients. *Hum Reprod*. 1997 May;12(5):925-9. PMID: 9194641 [PubMed - indexed for MEDLINE]

All the IVD Products manufactured by the company are under the control of a certified Quality Management System approved by an EC Notified Body. Each lot is submitted to a quality control and released into the market only if conforming with the EC technical specifications and acceptance criteria.

Manufacturer:

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l.

Via G. Carducci n° 27 – Sesto San Giovanni (MI) – Italy

CE
0318

Chlamydia trachomatis IgG

**Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la
determinación cuantitativa de anticuerpos IgG
específicos anti Chlamydia Trachomatis
en suero y plasma humanos**

- Uso exclusivo para diagnóstico “in vitro” -



DIA.PRO

**Diagnostic Bioprobes Srl
Via G. Carducci n° 27
20099 Sesto San Giovanni
(Milán) - Italia**

Teléfono +39 02 27007161

Fax +39 02 44386771

e-mail: info@diapro.it

C. trachomatis IgG

C. OBJETIVO DEL EQUIPO

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG específicos anti Chlamydia Trachomatis en plasma y suero humanos.

El equipo está diseñado para el seguimiento de pacientes que padecen una infección por Chlamydia Trachomatis.

Uso exclusivo para diagnóstico in vitro.

D. INTRODUCCIÓN

Chlamydia Trachomatis es un organismo intracelular obligado de tipo bacteriano que cuenta al menos con 15 serotipos reconocidos. C. Trachomatis es una de las tres especies distintas del género Chlamydia (Trachomatis, psittaci y pneumoniae).

La infección por C. Trachomatis en adultos es responsable de la mayoría de uretritis de transmisión sexual en hombres, cervicitis mucopurulenta en mujeres, enfermedad inflamatoria pélvica, linfogranuloma venéreo, la mayoría de síndromes uretrales agudos, infecciones oculares, coloproctitis y epididimitis. En bebés, el organismo es responsable de neumonía y conjuntivitis.

Las infecciones debidas a C. Trachomatis estimulan que el paciente genere una fuerte respuesta inmunológica tanto en IgG, muy duradera, como en IgA, cuya presencia guarda más correlación con una infección en curso o un episodio reciente. La determinación de IgG, IgA e IgM específicas de la especie es una herramienta útil para que el clínico identifique el agente infeccioso y para decidir la terapia adecuada.

C. PRINCIPIOS DEL ENSAYO

Las microplacas están recubiertas con un polipéptido específico de la especie derivado del antígeno principal de la membrana externa de Chlamydia Trachomatis (MOMP), lo que hace que el ensayo sea muy específico para C. Trachomatis (sin reacción cruzada con C. Pneumoniae).

En la 1ª incubación, la fase sólida se trata con muestras diluidas y las IgG anti-C. Trachomatis son capturadas, si las hay, por la fase sólida.

Después del lavado, que elimina el resto de los componentes de la muestra, en la 2ª incubación se detectan las IgG anti C. Trachomatis unidas, por la adición de anticuerpo anti hIgG, marcado con peroxidasa (HRP).

El enzima capturado en la fase sólida, combinado con la mezcla sustrato/cromógeno, genera una señal óptica proporcional a la cantidad de anticuerpos IgG anti C. Trachomatis presentes en la muestra. La presencia de IgG en la muestra puede cuantificarse por medio de una curva estándar calibrada en unidades arbitrarias por milímetro (Uarb/ml) porque no hay ningún estándar internacional disponible.

D. COMPONENTES

Cada equipo contiene reactivos suficientes para realizar 96 pruebas.

1. Microplacas: MICROPLATE

12 tiras de 8 pocillos rompibles recubiertos con polipéptido purificado de C. Trachomatis en presencia de proteínas de bovino. Las placas se encuentran en una bolsa sellada con desecante. Dejar que la microplaca alcance la temperatura ambiente antes de abrirla, volver a sellar las tiras sobrantes en la bolsa con el desecante y conservar a 4°C.

2. Curva de calibración: CAL N° ...

Curva estándar lista para el uso y con código de colores derivada de plasma humano positivo para IgG anti Chlamydia Trachomatis y titulada según un estándar de oro interno que oscila entre:

4 ml CAL1 = 0 arbU/ml

4 ml CAL2 = 5 arbU/ml

2ml CAL3 = 10 arbU/ml

2 ml CAL4 = 20 arbU/ml

2ml CAL 5 = 50 arbU/ml

4ml CAL6 = 100 arbU/ml.

Los estándares se calibran respecto a un estándar de oro interno o IGS ya que no se ha definido ninguno internacional.

Contiene proteínas de suero humano, 2% de caseína, tampón citrato sódico 10mM a pH 6.0 +/-0.1, 0.1% de Tween 20, además azida sódica al 0.09% y ProClin 300 0.045% como conservantes. Los estándares están codificados con color azul.

3. Solución de lavado concentrada: WASHBUF 20X

1x60ml/botella, solución concentrada 20x. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7.0 +/- 0.2, 0.05% de Tween 20 y ProClin 300 al 0,045%.

5. Conjugado de enzima: CONJ

1x16ml/vial. Listo para el uso y codificado con color rojo. Contiene anticuerpos policlonales de cabra anti IgG humana conjugados con peroxidasa (HRP), 5% de albúmina de suero bovino (BSA), tampón Tris 10 mM a pH 6,8+/-0.1, y ProClin 300 al 0,045% y sulfato de gentamicina al 0.02% como conservantes.

6. Cromógeno/ Substrato: SUBS TMB

1x16ml/vial. Contiene tampón citrato-fosfato 50 mM a pH 3.5-3.8, dimetilsulfóxido 4%, tetra-metil-benzidina (TMB) 0.03% y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0.02%.

Nota: Conservar protegido de la luz, la sustancia es sensible a la iluminación fuerte.

7. Ácido Sulfúrico: H₂SO₄ 0.3 M

1x15 ml/vial Contiene solución de H₂SO₄ 0.3 M.

Atención: Irritante (H315, H319; P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

8. Diluyente de muestras: DILSPE

2x60 ml/vial. Contiene 2% de caseína, tampón citrato sódico 10mM a pH 6.0 +/-0.1, 0.1% de Tween 20, además azida sódica al 0.09% y ProClin 300 0,045% como conservantes. Utilizar para diluir la muestra.

Codificado con color azul.

9. Sellador adhesivo n.º 2

10. Hoja de instrucciones n.º 1

E. MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS.

1. Micropipetas calibradas (1000, 100 y 10 µl) y puntas de plástico desechables.
2. Agua de calidad EIA (bidestilada o desionizada, tratada con carbón para eliminar oxidantes químicos usados como desinfectantes).
3. Temporizador con un rango de 60 minutos como mínimo.
4. Papel absorbente.
5. Incubador termostático de microplacas ELISA, calibrado (en seco o húmedo) ajustado a 37°C (+/-0.5°C de tolerancia).
6. Lector calibrado de micropocillos de ELISA con filtros de 450nm (lectura) y filtros de 620-630 nm (blanco).
7. Lavador calibrado de microplacas ELISA.
8. Agitador Vortex o similar.

F. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. El equipo debe ser usado exclusivamente por personal técnico adecuadamente entrenado, bajo la supervisión de un doctor responsable del laboratorio.
2. Todas las personas encargadas de realizar las pruebas deben llevar los indumentales protectores adecuados de

laboratorio, guantes sin talco y gafas. Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). Todo el personal debe ser adiestrado en procedimientos de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos, y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.

3. Todo el personal involucrado en el manejo de muestras debe estar vacunado contra HBV y HAV, para lo cual existen vacunas disponibles, seguras y eficaces.
4. Se debe controlar el ambiente del laboratorio para evitar la contaminación de los componentes con polvo o agentes microbianos ambientales cuando se abran los viales y las microplacas del equipo, así como durante la realización del ensayo. Proteger el cromógeno (TMB) de la luz fuerte y evitar las vibraciones de la mesa de trabajo durante el ensayo.
5. Conservar el equipo a temperaturas entre 2-8 °C, en un refrigerador con temperatura regulada o en cámara fría.
6. No intercambiar componentes de diferentes lotes ni tampoco de diferentes equipos del mismo lote.
7. Comprobar que los reactivos sean transparentes y no contengan precipitados ni agregados visibles. De darse el caso, informar al responsable para realizar el procedimiento pertinente y reemplazar el equipo.
8. Evitar contaminación cruzada entre muestras de suero/plasma usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso. No reutilizar puntas desechables.
9. Evitar contaminación cruzada entre los reactivos del equipo usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso. No reutilizar puntas desechables.
10. No usar el equipo después de la fecha de caducidad indicada en el contenedor externo y en las etiquetas internas (viales). Según un estudio realizado sobre un equipo abierto, no se ha detectado pérdida relevante de actividad, en hasta seis usos por un período de hasta 3 meses.
11. Tratar todas las muestras como potencialmente infecciosas. Todas las muestras de suero humano deben ser manipuladas al nivel 2 de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
12. Se recomienda el uso de material plástico desechable para la preparación de los componentes líquidos y para la transferencia de los componentes a los diferentes equipos automatizados a fin de evitar contaminaciones cruzadas.
13. Los desechos producidos durante el uso del equipo deben ser eliminados según lo establecido por las directivas y las leyes nacionales relacionadas con el tratamiento de los residuos químicos y biológicos de laboratorio. En particular, los desechos líquidos procedentes del procedimiento de lavado, de restos de controles y muestras deben ser tratados como material potencialmente infeccioso e inactivarse antes de su eliminación. Se recomienda la inactivación con una concentración final de lejía al 10% durante 16-18 horas o la inactivación con calor mediante autoclave a 121 °C durante 20 minutos.
14. En caso de derrame accidental de algún producto o muestra, se debe utilizar papel absorbente embebido en lejía y posteriormente en agua. El papel debe eliminarse en contenedores designados para este fin en hospitales y laboratorios.
15. El ácido sulfúrico es irritante. En caso de derrame, se debe lavar la superficie con abundante agua.
16. Otros materiales de desecho generados durante la utilización del equipo (por ejemplo: puntas utilizadas para las muestras y controles, microplacas usadas) deben ser manipuladas como fuentes potenciales de infección de

acuerdo a las directivas y leyes nacionales para el tratamiento de residuos de laboratorio.

G. MUESTRA: PREPARACIÓN Y ADVERTENCIAS.

1. Extraer la sangre asépticamente por punción venosa y preparar el suero o plasma según la técnica estándar para la preparación de muestras en los laboratorios de análisis clínico. No se ha detectado que el tratamiento con citrato, EDTA o heparina afecte las muestras.
2. Las muestras deben ser identificadas claramente mediante códigos o nombres, a fin de evitar errores en los resultados. Se recomienda el uso de código de barras y lectura electrónica.
3. Las muestras hemolizadas (color rojo) o hiperlipémicas (aspecto lechoso) deben ser descartadas para evitar falsos resultados, al igual que aquellas donde se observe la presencia de precipitados, restos de fibrina o filamentos y cuerpos microbianos.
4. El suero y el plasma pueden conservarse a una temperatura entre +2° y +8°C en tubos de recolección principales hasta cinco días después de la extracción. No congelar tubos de recolección principales. Para periodos de almacenamiento más prolongados, las muestras de plasma o suero, retiradas cuidadosamente del tubo de extracción principal, pueden almacenarse congeladas a –20°C durante al menos 12 meses, evitando luego descongelar cada muestra más de una vez, ya que se pueden generar partículas que podrían afectar al resultado de la prueba.
5. Si hay presencia de agregados, la muestra se puede aclarar mediante centrifugación a 2000 rpm durante 20 minutos o por filtración con un filtro de 0.2-0.8µ.

H. PREPARACIÓN DE LOS COMPONENTES Y ADVERTENCIAS.

Microplacas:

Dejar que la microplaca alcance la temperatura ambiente (aprox. 1 hora) antes de abrir el envase. Compruebe que el desecante no esté de color verde oscuro, lo que indicaría un defecto de fabricación.

De ser así, llame al servicio de atención al cliente de Dia.Pro. Las tiras de pocillos no utilizadas deben guardarse herméticamente cerradas en la bolsa de aluminio con el desecante a 2-8°C. Cuando se abre por primera vez, las tiras sobrantes se mantienen estables hasta que el indicador de humedad dentro de la bolsa con desecante cambia de amarillo a verde.

Curva de calibración

Componente listo para usar. Mezclar cuidadosamente en el agitador Vortex antes de usar.

Solución de lavado concentrada:

Todo el contenido de la solución concentrada 20x debe diluirse con agua bidestilada y mezclarse delicadamente antes de usarse. Durante la preparación hay que evitar la formación de espuma y burbujas, que podrían reducir la eficiencia de lavado.

Nota: Una vez diluida, la solución es estable por una semana a temperaturas entre +2 y 8°C.

Conjugado de enzima:

Listo para el uso. Mezclar bien con un agitador Vortex antes de usar.

Evitar posible contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microbios ambientales.

En caso de que deba transferirse este componente, usar contenedores de plástico, estériles y desechables, siempre que sea posible.

Cromógeno/ Substrato:

Listo para el uso. Mezclar bien con un agitador Vortex antes de usar.

Evitar posible contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microbios ambientales.

Evitar la exposición a la iluminación fuerte, agentes oxidantes y superficies metálicas.

En caso de que deba transferirse este componente, usar contenedores de plástico, estériles y desechables, siempre que sea posible.

Diluyente de muestras

Componente listo para usar. Mezclar cuidadosamente en un agitador Vortex antes de usar.

Ácido Sulfúrico:

Listo para el uso. Mezclar bien con un agitador Vortex antes de usar.

Atención: Irritante (H315, H319; P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

Leyenda:

Indicación de peligro, **Frases H**

H315 – Provoca irritación cutánea.

H319 – Provoca irritación ocular grave.

Consejo de prudencia, **Frases P**

P280 – Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P302 + P352 – EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P332 + P313 – En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.

P305 + P351 + P338 – EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P337 + P313 – Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

P362 + P363 – Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

I. INSTRUMENTOS Y EQUIPAMIENTO UTILIZADOS EN COMBINACIÓN CON EL EQUIPO.

1. Las micropipetas deben estar calibradas para dispensar correctamente el volumen requerido en el ensayo y sometidas a una descontaminación periódica de las partes que pudieran entrar accidentalmente en contacto con la muestra (alcohol al 70%, lejía al 10%, desinfectantes de calidad hospitalaria). Deben además, ser regularmente revisadas para mantener una precisión del 1% y una confiabilidad de +/-2%. Deben descontaminarse periódicamente los residuos o derrames de los componentes del equipo.
2. La incubadora ELISA debe ser ajustada a +37°C (+/- 0.5°C de tolerancia) y controlada periódicamente para mantener la temperatura correcta. Pueden emplearse incubadoras secas o baños de agua siempre que estén validados para la incubación de pruebas de ELISA.
3. El **lavador ELISA** es extremadamente importante para el rendimiento global del ensayo. El lavador debe ser validado de forma minuciosa previamente, revisado para comprobar que suministra el volumen de dispensación correcto y enviado regularmente a mantenimiento de acuerdo con las instrucciones de uso del fabricante. En particular, deben lavarse minuciosamente las sales con agua desionizada del lavador al final de la carga de trabajo diaria. Antes del uso, debe suministrarse extensivamente solución de lavado diluida al lavador. Debe enviarse el instrumento semanalmente a descontaminación según se indica en su manual (se recomienda descontaminación con NaOH 0.1 M). Para asegurar que el ensayo se realiza conforme a los

rendimientos declarados, basta con 5 ciclos de lavado (aspiración + dispensado de 350 µl/pocillo de solución de lavado + 20 segundos de remojo = 1 ciclo). Si no es posible remojar, añadir un ciclo de lavado adicional. Un ciclo de lavado incorrecto o agujas obstruidas con sal son las principales causas de falsas reacciones positivas.

4. Los tiempos de incubación deben tener un margen de $\pm 5\%$.
5. El lector de microplaca ELISA debe estar provisto de un filtro de lectura de 450nm y de un segundo filtro (620-630 nm, obligatorio) para reducir interferencias en la lectura. El rendimiento estándar debe contemplar: a) Ancho de banda $\leq 10\text{nm}$ b) Rango de absorbancia de 0 a ≥ 2.0 , c) Linealidad ≥ 2.0 , reproducibilidad $\geq 1\%$. El blanco se prueba en el pocillo indicado en la sección "Procedimiento del ensayo". El sistema óptico del lector debe ser calibrado periódicamente para garantizar que se mide la densidad óptica correcta. Periódicamente debe procederse al mantenimiento según las instrucciones del fabricante.
6. En caso de usar un sistema automatizado ELISA, los pasos críticos (dispensado, incubación, lavado, lectura y procesamiento de datos) deben ser cuidadosamente fijados, calibrados, controlados y periódicamente ajustados, para garantizar los valores indicados en la sección "Control interno de calidad". El protocolo del ensayo debe ser instalado en el sistema operativo de la unidad y validado tanto para el lavador como para el lector. Por otro lado, la parte del sistema que maneja los líquidos (dispensado y lavado) debe ser validada y fijada correctamente. Debe prestarse particular atención a evitar el arrastre por las agujas de dispensación y de lavado, a fin de minimizar la posibilidad de contaminación de pocillos adyacentes. Se recomienda el uso de sistemas automatizados de Elisa cuando la cantidad de muestras supera las 20-30 unidades por serie.
7. El servicio de atención al cliente en Dia.Pro, ofrece apoyo al usuario para ajustar y comprobar los instrumentos a usar en combinación con el equipo, con el propósito de asegurar el cumplimiento de los requerimientos descritos. También se ofrece apoyo para la instalación de nuevos instrumentos a usar con el equipo.

L. OPERACIONES Y CONTROLES PREVIOS AL ENSAYO.

1. Comprobar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa (envase primario). No usar si ha caducado.
2. Comprobar que los componentes líquidos no están contaminados con partículas ni agregados visibles.
3. Comprobar que el cromógeno (TMB) es incoloro o azul pálido, aspirando un pequeño volumen con una pipeta estéril de plástico.
4. Comprobar que no han ocurrido roturas ni derrames de líquido dentro de la caja (envase primario) durante el transporte. Comprobar que la bolsa de aluminio que contiene la microplaca no está perforada ni dañada.
5. Diluir totalmente la solución de lavado concentrada 20X, como se ha descrito anteriormente.
6. Dejar que los componentes restantes alcancen la temperatura ambiente (aprox. 1 hora), mezclar luego suavemente en el agitador Vortex todos los reactivos líquidos.
7. Ajustar la incubadora de ELISA a +37°C y alimentar el lavador de ELISA utilizando la solución de lavado, según las instrucciones del fabricante. Fijar el número correcto de ciclos de lavado según se indica en la sección específica.
8. Comprobar que el lector de ELISA esté encendido al menos 20 minutos antes de realizar la lectura.
9. Si se utiliza un sistema automatizado, encenderlo, comprobar la configuración y asegurarse de utilizar el protocolo de ensayo adecuado.
10. Comprobar que las micropipetas estén fijadas en el volumen requerido.

11. Asegurarse de que el equipamiento restante esté disponible y listo para el uso.
12. En caso de surgir algún problema, se debe detener el ensayo y avisar al responsable.

M. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.

El ensayo debe realizarse según las instrucciones que siguen a continuación. Es importante mantener en todas las muestras el mismo tiempo de incubación.

El equipo puede utilizarse también para determinaciones cualitativas y cuantitativas.

M1. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA:

1. Diluir las muestras 1:101 en un tubo de dilución adecuadamente definido (ejemplo: 1000 µl de diluyente de muestras + 10 µl de muestra). No diluir el conjunto de calibración ya que los calibradores están listos para el uso. Mezclar cuidadosamente todos los componentes líquidos en un agitador Vortex y después proceder como se describe a continuación.
2. Poner el número requerido de micropocillos en el soporte de micropocillos. Dejar los pocillos A1 y B1 vacíos para la operación de blanco.
3. A continuación, dispensar 100 µl de calibradores por duplicado. A continuación, dispensar 100 µl de muestras diluidas en cada pocillo adecuadamente identificado.
4. Incubar la microplaca durante **60 min a +37°C**.

Nota importante: Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado sólo cuando se hace el ensayo manualmente. No sellar cuando se emplean equipos automatizados de ELISA.

5. Lavar la microplaca con el lavador automático según se ha indicado arriba (sección I.3).
6. Dispensar 100 µl de conjugado de enzima en cada pocillo, excepto en los pocillos de blanco A1+B1, y cubrir con el sellador. Comprobar que este componente de color rojo ha sido dispensado en todos los pocillos excepto el A1 y el B1.

Nota importante: Tener cuidado de no tocar la pared interna de plástico del pocillo con la punta de la pipeta que contiene el conjugado de enzima. Podría producirse contaminación.

7. Incubar la microplaca durante **60 min a +37°C**.
8. Lavar los micropocillos como en el paso 5.
9. Dispensar 100 µl de mezcla cromógeno/substrato en todos los pocillos, incluidos los pocillos de blanco A1 y B1. Incubar la microplaca a **temperatura ambiente (18-24°C) durante 20 minutos**.

Nota importante: No exponer directamente a fuerte iluminación, de lo contrario se puede generar un fondo excesivo.

10. Dispensar 100 µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos para detener la reacción enzimática, usando la misma secuencia que en el paso 9. La adición del ácido cambia el color de los calibradores positivos, del suero de control y de las muestras positivas de azul a amarillo.
11. Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, según se describe en la sección I.5, utilizando un filtro de 450 nm (lectura) y otro de 620-630 nm (substracción del fondo, obligatorio), calibrando el instrumento con el pocillo A1 o B1, o ambos (blanco).

M2. DETERMINACIÓN CUALITATIVA

Si sólo se requiere una determinación cualitativa, proceder como se describe a continuación:

1. Diluir las muestras 1:101 en un tubo de dilución adecuadamente definido (ejemplo: 1000 µl de diluyente de muestras + 10 µl de muestra). No diluir el conjunto de calibración ya que los calibradores están listos para el uso. Mezclar cuidadosamente todos los componentes líquidos en un agitador Vortex y después proceder como se describe a continuación.
2. Poner el número requerido de micropocillos en el soporte de micropocillos. Dejar el pocillo A1 vacío para la operación de blanco.
3. Dispensar 100 µl de calibrador 0 arbU/ml y calibrador 5 arbU/ml por duplicado y de calibrador 100 arbU/ml individual. A continuación, dispensar 100 µl de muestras diluidas en cada pocillo adecuadamente identificado.
4. Incubar la microplaca durante **60 min a +37°C**.

Nota importante: Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado sólo cuando se hace el ensayo manualmente. No sellar cuando se emplean equipos automatizados de ELISA.

5. Lavar la microplaca con el lavador automático según se ha indicado arriba (sección I.3).
6. Dispensar 100 µl de conjugado de enzima en cada pocillo, excepto en el pocillo A1, y cubrir con el sellador. Comprobar que este componente de color rojo ha sido dispensado en todos los pocillos excepto el A1.

Nota importante: Tener cuidado de no tocar la pared interna de plástico del pocillo con la punta de la pipeta que contiene el conjugado de enzima. Podría producirse contaminación.

7. Incubar la microplaca durante **60 min a +37°C**.
8. Lavar los micropocillos como en el paso 5.
9. Dispensar 100 µl del Cromógeno/Substrato en todos los pocillos, incluido el pocillo de blanco. Incubar la microplaca a **temperatura ambiente (18-24°C) durante 20 minutos**.

Nota importante: No exponer directamente a fuerte iluminación, de lo contrario se puede generar un fondo excesivo.

10. Dispensar 100 µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos, usando la misma secuencia que en el paso 9. La adición del ácido cambia el color de los calibradores positivos, del suero de control y de las muestras positivas de azul a amarillo.
11. Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, según se describe en la sección I.5, utilizando un filtro de 450 nm (lectura) y de 620-630 nm (substracción del fondo, obligatorio), calibrando el instrumento con el pocillo A1 (blanco).

Notas generales importantes:

1. Asegurarse de que no hay impresiones digitales en el fondo del micropocillo antes de leer. Podrían generarse falsos positivos en la lectura.
2. La lectura debe hacerse inmediatamente después de añadir la solución de stop y, en cualquier caso, nunca transcurridos 20 minutos después de su adición. Se podría producir auto oxidación del cromógeno causando un elevado fondo.

N. ESQUEMA DEL ENSAYO.

Método	Operaciones
Calibradores	100 µl
Muestras diluidas 1:101	100 µl
1^{ra} incubación	60 min
Temperatura	+37°C
Paso de lavado	5 ciclos con 20" de remojo o 6 ciclos sin remojo
Conjugado de enzima	100 µl
2^{da} incubación	60 min
Temperatura	+37°C
Paso de lavado	5 ciclos con 20" de remojo o 6 ciclos sin remojo
TMB/H ₂ O ₂	100 µl
3^{ra} incubación	20 min
Temperatura	t.a.
Ácido Sulfúrico	100 µl
Lectura D.O.	450nm/620-630nm

A continuación se ofrece un ejemplo del esquema de dispensación para análisis cuantitativo:

Microplaca												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	CAL4	M3									
B	BL	CAL4	M4									
C	CAL1	CAL5	M5									
D	CAL1	CAL5	M6									
E	CAL2	CAL6	M7									
F	CAL2	CAL6	M8									
G	CAL3	M1	M9									
H	CAL3	M2	M10									

Leyenda: BL = Blanco CAL = Calibrador
SC = Suero de control M = Muestra

A continuación se describe un ejemplo del esquema de dispensado para ensayos cualitativos:

Microplaca												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	M 3	M11									
B	CAL1	M 4	M12									
C	CAL1	M 5	M13									
D	CAL2	M 6	M14									
E	CAL2	M 7	M15									
F	CAL6	M 8	M16									
G	M1	M 9	M17									
H	M2	M10	M18									

Leyenda: BL = Blanco CAL = Calibradores
M = Muestra

O. CONTROL DE CALIDAD INTERNO.

Se realiza una comprobación para validar los controles siempre que se utiliza el equipo para verificar si el rendimiento del ensayo reúne las condiciones. Controlar que los datos siguientes coinciden:

Compruebe que:	Exigencia
Pocillo blanco	Valor < 0.150 DO450nm
CAL 1 0 arbU/ml	Valor medio < 0.200 de DO450nm después de leer el blanco Coeficiente de variación < 30%
CAL 2 5 arbU/ml	DO450nm > DO450nm CAL1 + 0.100
CAL 6 100 arbU/ml	DO450nm > 1.000

Si los resultados del ensayo coinciden con la exigencia indicada arriba, pase a la siguiente sección.

En caso contrario, no continuar y hacer lo siguiente:

Problema	Compruebe que:
Pocillo blanco > 0.150	1. la solución cromógeno/substrato no se ha contaminado durante el ensayo.
CAL 1 0 arbU/ml > 0.200 DO450nm después de leer el blanco Coeficiente de variación > 30%	1. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 2. se ha usado la solución de lavado apropiada y que el lavador ha sido alimentado con la misma antes del uso. 3. no se han cometido errores en el procedimiento de ensayo (dispensar el calibrador positivo en lugar del negativo). 4. no ha existido contaminación del calibrador negativo ni de sus pocillos debido a muestras positivas derramadas, o al conjugado de enzima. 5. las micropipetas no se han contaminado con muestras positivas ni con el conjugado de enzima. 6. las agujas del lavador no estén parcial o totalmente obstruidas.
CAL 2 5 arbU/ml DO450nm < DO450nm CAL1 + 0.100	1. el procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. no se han cometido errores en su distribución (por ejemplo, dispensar un calibrador equivocado en su lugar). 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 4. no ha ocurrido contaminación externa del calibrador.
CAL 6 100 arbU/ml < 1.000 DO450nm	1. el procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. no se han cometido errores en la distribución (dispensar un calibrador equivocado en su lugar). 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 4. no ha ocurrido contaminación externa del control positivo.

Si se produce alguno de esos problemas, tras la comprobación, informe al responsable para tomar las medidas pertinentes.

Nota importante:

El análisis debe seguir el paso de lectura descrito en la sección M, punto 11.

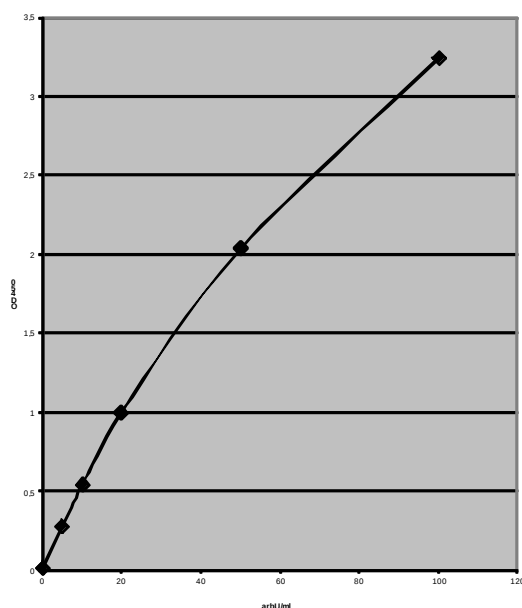
P. RESULTADOS

P.1 Método cuantitativo

Si la prueba es válida, usar el método cuantitativo y el programa de ajuste de curvas aprobado para trazar la curva de calibración a partir de los valores obtenidos de la lectura a 450nm/620-630nm (se sugiere la interpolación de 4 parámetros).

Después, en la curva de calibración calcular la concentración de anticuerpos IgG anti C. Trachomatis en las muestras.

A continuación se describe un ejemplo de curva de calibración.



Nota importante:

No usar la curva de calibración anterior para hacer cálculos.

P.2 Método cualitativo

En el método cualitativo, calcular los valores medios de DO450nm/620-630nm para los calibradores 0 y 5 arbU/ml y, a continuación, comprobar que el ensayo es válido.

Ejemplo de cálculo a realizar (datos obtenidos siguiendo el paso de lectura descrito en la sección M, punto 11).
:

Nota: Los siguientes datos no deben usarse en lugar de los valores reales obtenidos en el laboratorio.

Calibrador 0 arbU/ml: 0.020 – 0.024 DO450nm
 Valor medio: 0.022 DO450nm
 Menor de 0.150 – Válido
 Calibrador 5 arbU/ml: 0.250 – 0.270 DO450nm
 Valor medio: 0.260 DO450nm
 Mayor que Cal 0 + 0.100 – Válido
 Calibrador 100 arbU/ml: 2.045 DO450nm
 Mayor de 1.000 – Válido

La DO450nm/620-630nm del calibrador 5 arbU/ml se considera el valor de corte (Co) del sistema.
 La relación entre el valor de DO450nm/620-630nm de la muestra y la DO450nm/620-630nm del calibrador 5 arbU/ml (M/Co) puede proporcionar una estimación semicuantitativa del contenido de anti C. Trachomatis específico en la muestra.

Q. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Las muestras con una concentración inferior a 5 arbU/ml se consideran negativas para anticuerpos IgG anti C. Trachomatis.

Las muestras con una concentración superior a 5 arbU/ml se consideran positivas para anticuerpos IgG anti C. Trachomatis.

Notas importantes:

1. Los resultados de esta prueba por sí solos no son suficientes para proporcionar un diagnóstico claro de

infección por *Chlamydia Trachomatis*. Deben realizarse otras pruebas diagnósticas (por ejemplo, PCR).

2. La interpretación de los resultados debe hacerse bajo la vigilancia del responsable del laboratorio para reducir el riesgo de errores de juicio y de interpretación.
3. Cuando se transmiten los resultados de la prueba, del laboratorio a otras instalaciones, debe ponerse mucha atención para evitar el traslado de datos erróneos.
4. El diagnóstico debe ser realizado y comunicado al paciente por un médico calificado.

R. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

La evaluación del rendimiento ha sido realizada en paneles de muestras positivas y negativas con respecto a un equipo de referencia con marca CE.

1. Límite de detección.

Ningún estándar internacional para la detección de anticuerpos IgG anti C. Trachomatis ha sido definido hasta el momento por la Comunidad Europea.

A falta de dicho estándar, con el objetivo de garantizar una excelente y constante sensibilidad del dispositivo, fue definido un estándar de oro interno (IGS), a partir de un paciente con un historial de infección anterior.

2. Sensibilidad y especificidad diagnóstica:

La evaluación del rendimiento diagnóstico se realizó con muestras suministradas por un centro externo con gran experiencia en el diagnóstico de enfermedades infecciosas.

La **sensibilidad** del diagnóstico se estudió en más de 100 muestras positivas con el equipo de referencia. Las muestras positivas se recogieron de pacientes con un historial clínico de infección por *Chlamydia trachomatis*.

La **especificidad** diagnóstica se determinó utilizando paneles de más de 100 muestras, provenientes de individuos sanos y donantes de sangre, clasificadas como negativas mediante un equipo de referencia, incluyendo muestras con interferencias potenciales.

Se emplearon, además, plasma sometido a distintos métodos de tratamiento estándar (citrato, EDTA y heparina) y suero humano para determinar la especificidad. No se ha observado falsa reactividad debida a los métodos de tratamiento de muestras..

Las muestras congeladas también se han probado para comprobar si la congelación interfiere con el rendimiento del ensayo. No se ha observado interferencia a partir de muestras limpias y libres de partículas.

Se obtuvieron los siguientes valores a partir de la evaluación del rendimiento:

Sensibilidad	> 98 %
Especificidad	> 98 %

3. Precisión:

Se ha calculado con tres muestras, una negativa, una débilmente positiva y una altamente positiva, examinadas en 16 réplicas en tres series separadas de tres lotes.

Los resultados se describen del modo siguiente:

CTG.CE: lote P1

Calibrador 0 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^{ra} serie	Valor promedio
DO450nm	0.075	0.080	0.078	0.078
Desviación estándar	0.005	0.007	0.007	0.006
CV %	7.1	8.7	8.8	8.2

Calibrador 5 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^a serie	Valor promedio
DO450nm	0.306	0.260	0.269	0.281
Desviación estándar	0.025	0.031	0.043	0.033
CV %	8.1	8.3	6.2	7.5

Calibrador 50 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^a serie	Valor promedio
DO450nm	1.760	1.508	1.692	1.653
Desviación estándar	0.086	0.061	0.066	0.07
CV %	4.9	4.1	3.9	4.3

CTG.CE: lote P2

Calibrador 0 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^a serie	Valor promedio
DO450nm	0.079	0.077	0.078	0.078
Desviación estándar	0.006	0.005	0.006	0.006
CV %	7.4	7.1	7.7	7.4

Calibrador 5 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^a serie	Valor promedio
DO450nm	0.271	0.265	0.266	0.267
Desviación estándar	0.019	0.019	0.019	0.019
CV %	7.1	7.3	7.0	7.2

Calibrador 50 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^a serie	Valor promedio
DO450nm	1.638	1.651	1.647	1.645
Desviación estándar	0.059	0.053	0.058	0.057
CV %	3.6	3.2	3.5	3.4

CTG.CE: lote P3

Calibrador 0 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^a serie	Valor promedio
DO450nm	0.078	0.080	0.078	0.079
Desviación estándar	0.005	0.006	0.006	0.006
CV %	7.0	7.5	7.2	7.2

Calibrador 5 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^a serie	Valor promedio
DO450nm	0.269	0.276	0.271	0.272
Desviación estándar	0.020	0.019	0.020	0.020
CV %	7.3	6.9	7.4	7.2

Calibrador 50 ArbU/ml (N = 16)

Valores medios	1 ^{ra} serie	2 ^{da} serie	3 ^a serie	Valor promedio
DO450nm	1.578	1.595	1.608	1.594
Desviación estándar	0.053	0.049	0.054	0.052
CV %	3.3	3.1	3.4	3.3

La variabilidad mostrada en las tablas anteriores no dio como resultado una clasificación errónea de las muestras.

4. Precisión

La precisión del ensayo se ha comprobado con las pruebas de dilución y recuperación. Se descartó cualquier "efecto gancho" (subestimación que probablemente ocurriría con dosis altas de analito).

Nota importante:

Los datos de rendimiento se obtuvieron siguiendo el paso de lectura descrito en la sección M, punto 11.

S. LIMITACIONES

La contaminación bacteriana o la inactivación con calor de la muestra pueden afectar los valores de absorbancia de las muestras con la consecuente alteración de nivel del analito.

Las muestras que tras ser descongeladas presentan partículas de fibrina o agregados pueden generar algunos resultados falsos.

El ensayo es útil sólo para probar muestras independientes y no mezclas.

El diagnóstico de una enfermedad infecciosa no debe establecerse en base a un solo resultado, sino que deben tenerse en consideración la historia clínica del paciente, la sintomatología, así como otros datos diagnósticos.

T. BIBLIOGRAFÍA.

- Bas S, Genevay S, Schenkel MC, Vischer TL. Importance of species-specific antigens in the serodiagnosis of Chlamydia Trachomatis reactive arthritis. *Rheumatology* (Oxford). 2002 Sep;41(9):1017-20. PMID: 12209035 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Marston EL, James AV, Parker JT, Hart JC, Brown TM, Messmer TO, Jue DL, Black CM, Carlone GM, Ades EW, Sampson J. Newly characterized species-specific immunogenic Chlamydia pneumoniae peptide reactive with murine monoclonal and human serum antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002 Mar;9(2):446-52. PMID: 11874892 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Morré SA, Munk C, Persson K, Krüger-Kjaer S, van Dijk R, Meijer CJ, van Den Brule AJ. Comparison of three commercially available peptide-based immunoglobulin G (IgG) and IgA assays to microimmunofluorescence assay for detection of Chlamydia Trachomatis antibodies. *J Clin Microbiol*. 2002 Feb;40(2):584-7. PMID: 11825974 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Bas S, Muzzin P, Vischer TL. Chlamydia Trachomatis serology: diagnostic value of outer membrane protein 2 compared with that of other antigens. *J Clin Microbiol*. 2001 Nov;39(11):4082-5. PMID: 11682533 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Bas S, Muzzin P, Ninet B, Bornand JE, Scieux C, Vischer TL. Chlamydial serology: comparative diagnostic value of immunoblotting, microimmunofluorescence test, and immunoassays using different recombinant proteins as antigens. *J Clin Microbiol*. 2001 Apr;39(4):1368-77. PMID: 11283058 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Klein M, Kötz A, Bernardo K, Krönke M. Detection of Chlamydia pneumoniae-specific antibodies binding to the VD2 and VD3 regions of the major outer membrane protein. *J Clin Microbiol*. 2003 May;41(5):1957-62. PMID: 12734234 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Mygind P, Christiansen G, Persson K, Birkelund S. Detection of Chlamydia Trachomatis-specific antibodies in human sera by recombinant major outer-membrane protein polyantigens. *J Med Microbiol*. 2000 May;49(5):457-65. PMID: 10798559 [PubMed - indexed for MEDLINE]

8. Jones CS, Maple PA, Andrews NJ, Paul ID, Caul EO.Measurement of IgG antibodies to Chlamydia Trachomatis by commercial enzyme immunoassays and immunofluorescence in sera from pregnant women and patients with infertility, pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy, and laboratory diagnosed Chlamydia psittaci/Chlamydia pneumoniae infection.J Clin Pathol. 2003 Mar;56(3):225-9.PMID: 12610104 [PubMed - indexed for MEDLINE]
9. Portig I, Goodall JC, Bailey RL, Gaston JS.Characterization of the humoral immune response to Chlamydia outer membrane protein 2 in chlamydial infection.Clin Diagn Lab Immunol. 2003 Jan;10(1):103-7.PMID: 12522047 [PubMed - indexed for MEDLINE]
10. Bas S, Vischer TL.Chlamydia Trachomatis antibody detection and diagnosis of reactive arthritis.Br J Rheumatol. 1998 Oct;37(10):1054-9.PMID: 9825743 [PubMed - indexed for MEDLINE]
11. Mygind P, Christiansen G, Persson K, Birkelund S.Analysis of the humoral immune response to Chlamydia outer membrane protein 2.Clin Diagn Lab Immunol. 1998 May;5(3):313-8.PMID: 9605983 [PubMed - indexed for MEDLINE]
12. Bas S, Scieux C, Vischer TL.Different humoral immune response to Chlamydia Trachomatis major outer membrane protein variable domains I and IV in Chlamydia-infected patients with or without reactive arthritis.Arthritis Rheum. 1999 May;42(5):942-7.PMID: 10323449 [PubMed - indexed for MEDLINE]
13. Neuer A, Lam KN, Tiller FW, Kiesel L, Witkin SS.Humoral immune response to membrane components of Chlamydia Trachomatis and expression of human 60 kDa heat shock protein in follicular fluid of in-vitro fertilization patients.Hum Reprod. 1997 May;12(5):925-9.PMID: 9194641 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Todos los productos de diagnóstico in vitro fabricados por la empresa son controlados por un sistema certificado de control de calidad aprobado por un organismo notificado para el marcado CE. Cada lote se somete a un control de calidad y se libera al mercado únicamente si se ajusta a las especificaciones técnicas y criterios de aceptación de la CE.

Fabricante:
Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l.
Via G. Carducci n° 27 – Sesto San Giovanni
(Milán) – Italia



0318

