



SeroFIA™ *C. trachomatis*

Ensayo por inmunofluorescencia para la detección de anticuerpos IgG, IgA e IgM específicos frente a *C. trachomatis* en suero humano.

Manual de Instrucciones

Kit para 105/315 determinaciones
Ref N°: A580-01/B580-01

Para uso en el Diagnóstico In Vitro.
Exclusivamente para uso profesional
Almacenar de 2-8C°. **No congelar.**



Savyon® Diagnostics Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 77610
ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Aplicaciones

SeroFIA™ *C. trachomatis* es un ensayo semicuantitativo por inmunofluorescencia para la determinación diferencial de anticuerpos IgG, IgA e IgM específicos frente a *C. trachomatis* en muestras aisladas de suero humano.

Para uso en el diagnóstico *In Vitro*.

Resumen y Explicación

La Chlamydia, una bacteria gram negativa altamente especializada, se compone de cuatro especies:

C. trachomatis, *C. pneumoniae* (TWAR), *C. psittaci* y *C. pecorum*.

La *C. trachomatis* incluye 15 serotipos que comparten epítomos inmunogénicos de varios grados. La *C. trachomatis* es uno de los agentes causales más comunes de las enfermedades de transmisión sexual y se asocia con la uretritis no gonocócica (NGU) y epididimitis en el hombre, cervicitis, uretritis y enfermedad inflamatoria pélvica en la mujer, síndrome de Reiter en individuos con haplotipo HLA-B27, conjuntivitis neonatal y neumonía en el recién nacido (2-6).

La *C. pneumoniae* es un importante patógeno respiratorio en humanos y es el causante de hasta el 10% de los casos de neumonía adquirida por la comunidad. Se ha asociado a enfermedades respiratorias agudas, neumonía, asma, bronquitis, faringitis, síndrome respiratorio agudo de la drepanocitosis, enfermedad coronaria y el síndrome de Guillain-Barre (7-9).

C. psittaci infecta a un amplio rango de especies desde los moluscos a pájaros y mamíferos y origina también neumonía severa.

Los ensayos serológicos son utilizados en la rutina para el diagnóstico de las infecciones por chlamydia. Los ensayos serológicos sirven como una herramienta no invasiva en la identificación de infecciones por chlamydia crónicas y pasadas (10,11) donde los métodos por detección directa son raramente eficaces. Además, la presencia de ciertos tipos de anticuerpos puede también indicar el estado de la enfermedad.

Una infección primaria de Chlamydia se caracteriza por una respuesta de IgM predominante dentro de las primeras 2-4 semanas y una respuesta posterior de IgG e IgA dentro de las siguientes 6-8 semanas. Tras una infección aguda por *C. pneumoniae* los anticuerpos IgM desaparecen en la mayoría de los casos transcurridos 2-6 meses (12), el título de IgG aumenta y en general disminuye lentamente; mientras que los anticuerpos IgA tienden a desaparecer rápidamente (13). Infecciones secundarias por Chlamydia se caracterizan por una ausencia de respuesta de IgM y una respuesta rápida de IgG e IgA (9). Los anticuerpos IgA han mostrado ser un marcador inmunológico de utilidad en infecciones primarias, crónicas y recurrentes. Estos anticuerpos en general disminuyen rápidamente a niveles basales tras el tratamiento y la erradicación de la infección por Chlamydia (1-6, 10,11).

La persistencia de un título elevado del anticuerpo IgA, en general se considera como un signo de infección crónica (13). En un estudio realizado en pacientes de edad avanzada con infecciones respiratorias, se estimó que una quinta parte de los casos de infección por *C. pneumoniae* se perderían sin la determinación de IgA (14).

Los anticuerpos IgG persisten durante largos periodos de tiempo y disminuyen muy lentamente. Así, la presencia de anticuerpos IgG es principalmente indicativa de una infección por Chlamydia desde un tiempo sin determinar. Sin embargo un incremento de 4 veces en el nivel de la IgG o un valor de la IgG muy elevado, pueden indicar una infección crónica o sistémica en curso.

El test de Savyon SeroFIA™ *C. trachomatis* es un ensayo de micro-IF basado en los principios de la MIF. SeroFIA™ *C. trachomatis* utiliza como antígeno cuerpos elementales purificados de *C. trachomatis* (L2),

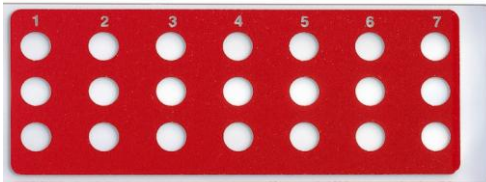
Principio del Ensayo

- Los cuerpos elementales (Ebs) purificados de *C. trachomatis* se fijan en el interior de los pocillos del kit SeroFIA.
- Los sueros diluidos de los pacientes se disponen sobre el antígeno y se incuban durante 30 minutos a 37C°.
- Tras la incubación, los portas se lavan y se eliminan los componentes del suero que no se han unido.
- En un segundo paso se añade anticuerpo anti IgG, anti IgA o anti IgM humana conjugado con fluoresceína y se incuban durante 30 minutos a 37C°.
- Tras la incubación, los portas se lavan y se eliminan los componentes del suero que no se han unido.
- Los portas se secan y se montan añadiendo 3 gotas de medio de montaje.
- Se examinan utilizando un microscopio de fluorescencia. Las reacciones positivas aparecen como Ebs brillantes de color verde manzana fluorescente sobre un fondo oscuro.
Para determinaciones cualitativas es suficiente una única dilución de suero. Para resultados semicuantitativos debería realizarse una titulación para definir el punto de corte.

Componentes del kit

- Portas Substrato de la Reacción (3X7 pocillos/unidad)**
Los portas están recubiertos con antígenos de *C. trachomatis*. Cada porta se empaqueta en una bolsa de aluminio que contiene un paquete con gel de sílice.

5/15 unidades



- Solución de Lavado Concentrada (20x):** Solución de PBS-Tween, (pH 7.4-7.6) que contiene ClNa, Na₂HPO₄, KH₂PO₄ y tween 20.
1 botella, 100ml.
- Diluyente del Suero:** Tampón PBS que contiene gelatina, albúmina sérica bovina, Cl₂Mg y azida sódica por debajo del 0.1%.
1 botella, 80ml.
- Control Negativo:** Suero humano negativo para anticuerpos IgG, IgA e IgM frente a *C. pneumoniae*, *C. trachomatis* y *C. psittaci*. Contiene azida sódica <0.1%. Listo para usar.
1 vial, 0.5ml.
- Control Positivo Para IgG:** Suero humano positivo para anticuerpos IgG frente a *C. trachomatis*. Contiene azida sódica <0.1%. Listo para usar.
1 vial, 0.2ml.
- Control Positivo Para IgA:** Suero humano positivo para anticuerpos IgA frente a *C. trachomatis*. Contiene azida sódica <0.1%. Listo para usar.
1 vial, 0.2ml.
- Control Positivo PARA IgM:** Suero humano positivo para anticuerpos IgM frente a *C. trachomatis*. Contiene azida sódica <0.1%. Listo para usar.
1 vial, 0.2ml.
- Conjugado IgG-FITC:** Anticuerpo de conejo anti IgG humana marcado con fluoresceína (específico de cadena γ). Listo para usar.
1 vial, 3.3 ml.
- Conjugado IgA-FITC:** Anticuerpo de conejo anti IgA humana marcado con fluoresceína (específico de cadena α). Listo para usar.
1 vial, 3.3ml.
- Conjugado IgM-FITC:** Anticuerpo de conejo anti IgM humana marcado con fluoresceína (específico de cadena μ). Listo para usar.
1 vial, 3.3ml.
- Reactivo de Inactivación de IgG:** Anti IgG humana que contiene azida sódica <0.1% (para IgM únicamente)
1 vial, 4ml.
- Medio de Montaje:** Contiene azida sódica <0.1%.
1 frasco gotero, 1.5ml.
- Cubres:** **1 unidad**
- Manual de Instrucciones** **1**

Materiales requeridos que no se proporcionan

- Microplacas o tubos limpios para la dilución de los sueros de los pacientes.
- Centrífuga.
- Micropipetas ajustables (rango en μ l, 5-50, 50-200, 200-1000) y puntas desechables.
- Probeta (1 litro)
- Vortex.
- Baño con tapa a 37C°, o cámara de incubación húmeda a 37C°.
- Bandejas de plástico para la incubación de los portas.
- Agua destilada o doblemente desionizada para la dilución de la solución de lavado concentrada.
- Frasco lavador de plástico.
- Soporte de portas y jarra de tinción.
- Cronómetro.
- Microscopio de fluorescencia con filtros apropiados para lectura de fluorescencia con FITC y con aumentos de 400x y 1000x.

Precauciones

Para Utilización en el Diagnóstico *In Vitro*

Medidas de Seguridad:

- Este kit contiene suero humano que ha sido analizado por técnicas aprobadas por la FDA, CE, y se ha encontrado que es negativo para el antígeno de superficie de la hepatitis B y para anticuerpos frente a VHC y VIH. Sin embargo, ya que no se conoce ningún método capaz de ofrecer una garantía absoluta de que el producto derivado de sangre humana no transmite infección, todos los componentes de sangre humana que se proporcionan en el kit, deben manipularse como muestras de suero o sangre potencialmente infecciosas, de forma idéntica o similar a aquellas recomendaciones publicadas en el manual CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1988; (normativa española: R.D. 664/1997 sobre Protección de los Trabajadores contra Riesgos relacionados con la Exposición a Agentes Biológicos en el Trabajo).
- El material antigénico procedente de Chlamydia que recubre los portas ha sido inactivado y no contiene organismos vivos detectables. Sin embargo, ya que no se conoce ningún método capaz de garantizar completamente que los productos derivados de organismos patógenos no transmiten infección, los portas deberán manipularse y desecharse como si tuviesen algún componente biopeligroso, y de forma idéntica o similar a las recomendaciones publicadas en el manual CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1988; (normativa española: R.D. 664/1997 sobre Protección de los Trabajadores contra Riesgos relacionados con la Exposición a Agentes Biológicos en el Trabajo).
- Se ha descrito que la azida sódica forma complejos de azida con el plomo y con el cobre de las cañerías del laboratorio, que son explosivos. Para evitar la acumulación de estos componentes, dejar correr abundante agua por el fregadero y las cañerías, tras la eliminación de los componentes que contengan azida.
- No pipetear con la boca.
- Evitar el contacto con la piel de cualquiera de los componentes del kit.

6. Utilizar guantes desechables mientras se manejan los sueros y se realiza el ensayo. Lavar las manos vigorosamente después de quitarse los guantes.
7. Cualquier equipamiento, líquidos u otras substancias que entren en contacto con el suero humano deberán considerarse como potencialmente contaminados. Deberán esterilizarse o inactivarse tras su uso y antes de su eliminación o limpieza. La inactivación puede realizarse con un ciclo de autoclave a 121C° durante al menos 1 hora, o por tratamiento con una solución de hipoclorito sódico (lejía doméstica) a una concentración final del 5% durante al menos 30 minutos.
8. El conjugado FITC contiene Azul de Evans, el cual es carcinógeno. Evitar el contacto con la piel y con los ojos.
9. El medio de montaje contiene componentes corrosivos. Evitar el contacto con la piel y no inhalar. En caso de contacto con la piel y los ojos, enjuagar inmediatamente con abundante agua.

Conservación y Vida Media de Los Reactivos

Todos los materiales que se proporcionan deben almacenarse de 2-8C°. Si se mantienen a esta temperatura, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el kit. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad. La exposición de los componentes del kit a temperatura ambiente durante unas pocas horas no produce ningún daño.

No exponer los reactivos a fuentes luminosas potentes. No congelar los reactivos.

Extracción y Preparación de las Muestras

Extracción del suero

Preparar los sueros a partir de las muestras extraídas asépticamente utilizando las técnicas estándar. No deberían utilizarse sueros inactivados por calor. No se recomienda ensayar sueros turbios, hemolizados o lipémicos. La presencia de partículas o precipitados en el suero puede causar resultados erróneos. Estas muestras deberían aclararse por centrifugación o filtración antes del ensayo.

Almacenamiento

Las muestras deberían almacenarse a 2-8C° y testarse antes de los siguientes 7 días (está altamente recomendado la adición de azida sódica al 0.1%). Si se ha previsto un periodo de almacenamiento superior, alicuotar y almacenar las muestras a -20C° o temperatura inferior. Evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación.

Validación del Test:

Para validar el ensayo se deberán cumplir las siguientes condiciones. Si no se cumplen las condiciones que se indican a continuación, el ensayo no debería considerarse como válido y debería repetirse.

Controles Positivos: Los EB de *C. trachomatis* muestran una tinción fluorescente verde manzana de intenso a moderado.

Controles Negativos: No muestran reactividad (tinción) con *C. trachomatis*.

Si los controles no muestran estas características, el ensayo debería considerarse como no válido.

Interpretación y Significado de Los Resultados

Se recomienda comenzar leyendo los pocillos correspondientes a los controles, para asegurar una correcta interpretación de los resultados.

Realizar una lectura de la fluorescencia e intensidad de las muestras clínicas, como se indica a continuación:

+ Los cuerpos elementales aparecen con una fluorescencia moderada a intensa, definida o difusa de color verde manzana.

± Los cuerpos elementales muestran una fluorescencia definida pero débil, debería considerarse como el título correspondiente al punto de corte del suero.

El título correspondiente al punto de corte de un suero determinado se define como la última dilución que todavía proporciona una tinción perceptible. La siguiente dilución mostraría un aspecto idéntico al del control negativo

- Sin fluorescencia o con una débil fluorescencia de fondo sin una morfología clara de *Chlamydia*.

Procedimiento del Ensayo Para la IgG

Preparación de las muestras:

Para realizar un sondeo inicial, realizar una dilución de los sueros 1:64 en Diluyente de Suero, añadiendo 10µl de suero a 630µl de Diluyente de Suero. Para determinar el título del punto de corte, realizar diluciones en serie en Diluyente de Suero comenzando por 1:64.

Nota:

Se recomienda incluir un pocillo de control positivo de IgG y un pocillo de control negativo de IgG en cada uno de los ensayos.

Control positivo puede utilizarse como un control del punto de corte si se utiliza a la dilución 1: 64.

1. Antes de comenzar con la técnica los reactivos y sueros de los pacientes a testar, deben alcanzar la temperatura ambiente.
2. Diluir la Solución de Lavado Concentrada 1:20, añadiendo 50ml de esta solución a 950ml de agua doblemente desionizada o destilada. La solución diluida puede almacenarse de 2-8C° hasta 2 semanas.
3. Pipetear 10µl de los controles o de las muestras de suero diluidas en los pocillos adecuados.
4. Incubar los portas en un baño o en una cámara húmeda a 37C° durante 30 minutos.
5. Sacar los portas de la cámara húmeda y enjuagar con cuidado con un chorro de solución de lavado diluida utilizando un frasco lavador. Lavar los portas sumergiéndolos en una jarra de tinción que contenga solución de lavado diluida. Mantener los portas inmersos durante 10 minutos.
Sumergir los portas lavados en agua doblemente destilada. Extraer y secar al aire.
6. Pipetear 10µl del conjugado FITC a cada pocillo.

7. Incubar a 37C° durante 30 minutos.
8. Repetir el paso de aclarado y lavado de los portas como en el paso 5.
9. Colocar tres gotas de medio de montaje en el centro del porta. Montar con el cubre. Eliminar las burbujas de aire, presionando suavemente sobre el cubre.
10. Leer los resultados en un microscopio de fluorescencia con aumentos de 400X y 1000X. Para optimizar los resultados leer los portas en el mismo día en el que se realiza el ensayo. Si esto no fuera posible, los portas montados pueden almacenarse de 2-8C° en oscuridad hasta 3 días.

| Intensidad de la fluorescencia a la dilución 1:64 | Interpretación de los resultados |
|---|--|
| + | Presencia de anticuerpos IgG específicos frente a <i>C. trachomatis</i>. Se requiere titulación para establecer el punto de corte y definir infección actual, reciente o pasada ¹ |
| ± | Indicativo de una posible exposición a <i>C. trachomatis</i>. Se requiere repetir el ensayo con una segunda muestra transcurridas de 2-4 semanas ² |
| - | Negativo. No se detectan anticuerpos IgG frente a <i>C. trachomatis</i> . |

1. Títulos con valores $\geq 1:64$ evidencian una infección actual o reciente por *C. trachomatis*
2. Cuando se realice un ensayo con una segunda muestra, deberían ensayarse simultáneamente tanto la primera como la segunda muestra. Si se repite el resultado para el punto de corte, la muestra debería considerarse negativa.

Nota: En casos puntuales, puede observarse una tinción clara y densa de partículas muy pequeñas (inferiores que los EB) del antígeno. Esto podría resultar como consecuencia de la reactividad frente a los LPS. Debería realizarse un ensayo para detección de anticuerpos IgG e IgM o ensayar una segunda muestra de suero extraída después de 2-3 semanas. Si la IgM y la IgG resultan negativas, y se repiten los resultados de la IgA la muestra debería considerarse negativa.

Procedimiento del Ensayo Para la IgA

Preparación de las muestras:

Para realizar un sondeo inicial, realizar una dilución de los sueros 1:32 en Diluyente de Suero, añadiendo 10µl de suero a 310µl de Diluyente de Suero. Para determinar el título del punto de corte, realizar diluciones en serie en Diluyente de Suero comenzando por 1:32.

Nota:

Se recomienda incluir un pocillo de control positivo de IgA y un pocillo de control negativo de IgA en cada uno de los ensayos.

Control positivo puede utilizarse como un control del punto de corte si se utiliza a la dilución 1: 128.

1. Antes de comenzar con la técnica los reactivos y sueros de los pacientes a testar, deben alcanzar la temperatura ambiente.
2. Diluir la Solución de Lavado Concentrada 1:20, añadiendo 50 ml de esta solución a 950 ml de agua doblemente desionizada o destilada. La solución diluida puede almacenarse de 2-8C° hasta 2 semanas.
3. Pipetear 10µl de los controles o de las muestras de suero diluidas en los pocillos adecuados.
4. Incubar los portas en un baño o en una cámara húmeda a 37C° durante 30 minutos.
5. Sacar los portas de la cámara húmeda y enjuagar con cuidado con un chorro de solución de lavado diluida utilizando un frasco lavador. Lavar los portas sumergiéndolos en una jarra de tinción que contenga solución de lavado diluida. Mantener los portas inmersos durante 10 minutos. Sumergir los portas lavados en agua doblemente destilada. Extraer y secar al aire.
6. Pipetear 10µl del conjugado FITC a cada pocillo.
7. Incubar a 37C° durante 30 minutos.
8. Repetir el paso de aclarado y lavado de los portas como en el paso 5.
9. Colocar tres gotas de medio de montaje en el centro del porta. Montar con el cubre. Eliminar las burbujas de aire, presionando suavemente sobre el cubre.
10. Leer los resultados en un microscopio de fluorescencia con aumentos de 400X y 1000X. Para optimizar los resultados leer los portas en el mismo día en el que se realiza el ensayo. Si esto no fuera posible, los portas montados pueden almacenarse de 2-8C° en oscuridad hasta 3 días.

| Intensidad de la fluorescencia a la dilución 1:32 | Interpretación de los resultados |
|---|---|
| + | Presencia de anticuerpos IgA específicos frente a <i>C. trachomatis</i>. Un título \geq de 1:32 se considera como una presunta evidencia de infección. |
| ± | Indicativo de una posible exposición a <i>C. trachomatis</i>. Se requiere repetir el ensayo con una segunda muestra transcurridas de 2-4 semanas ¹ |
| - | Negativo. No se detectan anticuerpos IgA frente a <i>C. trachomatis</i> . |

1. Cuando se realice un ensayo con una segunda muestra, deberían ensayarse simultáneamente tanto la primera como la segunda muestra. Aquellos pacientes con una infección actual por a *C. trachomatis* exhibirán un incremento en el título del anticuerpo. Si se repite el resultado para el punto de corte, la muestra debería considerarse negativa.

Nota: En casos puntuales, puede observarse para uno o más antígenos una tinción clara y densa de partículas muy pequeñas (inferiores que los EB). Esto podría resultar como consecuencia de la reactividad frente a los LPS. Debería realizarse un ensayo para detección de anticuerpos IgG e IgM o ensayar una segunda muestra de suero extraída después de 2-3 semanas. Si la IgM y la IgG resultan negativas, y se repiten los resultados de la IgA la muestra debería considerarse negativa.

Procedimiento del Ensayo Para la IgM

Preparación de las muestras

1. Añadir 5µl del suero de cada uno de los pacientes a 45µl del reactivo para la inactivación de la IgG. Mezclar con cuidado con vortex.
2. Añadir a cada uno de los 50µl de suero tratado otros 50µl de Diluyente de Suero. La dilución final del suero que se obtiene en este paso es 1:20.

Para determinar el título del punto de corte, realizar diluciones en serie con el Diluyente de Suero comenzando por 1:20.

Nota:

Se recomienda incluir un pocillo de control positivo para la IgM y un pocillo de control negativo para la IgM en cada uno de los ensayos.

Control positivo puede utilizarse como un control del punto de corte si se utiliza a la dilución 1: 64.

1. Antes de comenzar con la técnica los reactivos y sueros de los pacientes a testar, deben alcanzar la temperatura ambiente.
2. Diluir la Solución de Lavado Concentrada 1:20, añadiendo 50ml de esta solución a 950 ml de agua doblemente desionizada o destilada. La solución diluida puede almacenarse de 2-8C° hasta 2 semanas.
3. Pipetear 10µl de los controles o de las muestras de suero diluidas en los pocillos adecuados.
4. Incubar los portas en un baño o en una cámara húmeda a 37C° durante 90 minutos.
5. Sacar los portas de la cámara húmeda y enjuagar con cuidado con un chorro de solución de lavado diluida utilizando un frasco lavador. Lavar los portas sumergiéndolos en una jarra de tinción que contenga solución de lavado diluida. Mantener los portas inmersos durante 10 minutos. Sumergir los portas lavados en agua doblemente destilada. Extraer y secar al aire.
6. Pipetear 10µl del conjugado FITC a cada pocillo.
7. Incubar a 37C ° durante 30 minutos.
8. Repetir el paso de aclarado y lavado de los portas como en el paso 5.
9. Colocar tres gotas de medio de montaje en el centro del porta. Montar con el cubre. Eliminar las burbujas de aire, presionando suavemente sobre el cubre.
10. Leer los resultados en un microscopio de fluorescencia con aumentos de 400X y 1000X. Para optimizar los resultados leer los portas en el mismo día en el que se realiza el ensayo. Si esto no fuera posible, los portas montados pueden almacenarse de 2-8C° en oscuridad hasta 3 días.

| Intensidad de la fluorescencia a la dilución 1:20 | Interpretación de los resultados |
|---|---|
| + | Presencia de anticuerpos IgM específicos frente a <i>C. trachomatis</i>. Títulos \geq 1:20 se considera como una presunta evidencia de infección. |
| ± | Indicativo de una posible exposición a <i>C. trachomatis</i>. Se requiere repetir el ensayo con una segunda muestra transcurridas de 2-4 semanas ¹ |
| - | Negativo. No se detectan anticuerpos IgM frente a <i>C. trachomatis</i> . |

1. En casos de resultados dudosos para el punto de corte, debería extraerse una segunda muestra de suero transcurridas 2-4 semanas más tarde y ensayarse junto con la primera muestra. Si se repite el resultado dudoso para ese punto de corte, la muestra debería considerarse negativa.

Significado del título del punto de corte para la IgM

Si se desea obtener unos resultados semi-cuantitativos, debería realizarse una titulación del punto de corte.

Con objeto de obtener un perfil más comprensible para los anticuerpos, debería también realizarse un ensayo para la IgM y la IgA.

Interpretación de los resultados basada en la combinación de los anticuerpos IgG, IgA e IgM.

| Niveles de anticuerpos frente a <i>C. trachomatis</i> | | | Interpretación de los resultados |
|---|---------------------|---------------------|---|
| IgM | IgG | IgA | |
| Negativo | Negativo | Negativo | Sin indicación de infección por <i>C. trachomatis</i> |
| Positivo | Negativo o Positivo | Negativo o Positivo | Indicativo de infección actual o crónica. |
| Negativo | Positivo | Negativo | Indicativo de infección pasada o infección actual |
| Negativo | Positivo o Negativo | Positivo | Indicativo de infección actual o infección crónica. |

Limitaciones del Ensayo

1. No debe utilizarse únicamente un ensayo serológico para realizar un diagnóstico final. Deben tenerse en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.
2. Las muestras extraídas al inicio de una infección primaria, pueden no contener cantidades detectables de anticuerpos. Si se sospecha de una infección por *Chlamydia*, deberá obtenerse una segunda muestra transcurridas 2-3 semanas, y ensayarse en paralelo con la muestra original.
3. La reactividad del suero con múltiples especies de *Chlamydia*, puede deberse a la exposición a más de una especie de *chlamydia* o a reacciones cruzadas de los anticuerpos.
4. El microscopio óptico y las condiciones de la fuente de luz y el tipo pueden afectar a la intensidad total de fluorescencia y a la determinación del título correspondiente al punto de corte.

Características del Ensayo

El estudio se realizó en un centro médico independiente con sueros de pacientes con sospecha de infección por *C. trachomatis*.

Resultados obtenidos para la *C. trachomatis* con el kit SeroFIA™ IgG en comparación con el método de referencia por MIF

| SeroFIA™ | MIF | Positivo | Negativo | Total |
|----------|-----|----------|----------|-------|
| Positivo | | 47 | 2 | 49 |
| Negativo | | 5 | 46 | 51 |
| Total | | 52 | 48 | 100 |

Sensibilidad: $47/52 \times 100 = 90.3\%$
Especificidad: $46/48 \times 100 = 95.8\%$
Concordancia entre Ambos métodos: $93/100 \times 100 = 93\%$

Resultados obtenidos para la *C. trachomatis* con el kit SeroFIA™ IgA en comparación con el método de referencia por MIF

| SeroFIA™ | MIF | Positivo | Negativo | Total |
|----------|-----|----------|----------|-------|
| Positivo | | 11 | 6 | 17 |
| Negativo | | 2 | 52 | 54 |
| Total | | 13 | 58 | 71 |

Sensibilidad: $11/13 \times 100 = 84.6\%$
Especificidad: $52/58 \times 100 = 89.7\%$
Concordancia entre Ambos métodos: $63/71 \times 100 = 88.7\%$

Resultados obtenidos para la *C. trachomatis* con el kit SeroFIA™ IgM en comparación con el método de referencia por MIF

| SeroFIA™ | MIF | Positivo | Negativo | Total |
|----------|-----|----------|----------|-------|
| Positivo | | 4 | 0 | 4 |
| Negativo | | 1 | 26 | 27 |
| Total | | 5 | 26 | 31 |

Sensibilidad: $4/5 \times 100 = 80\%$
Especificidad: $26/26 \times 100 = 100\%$
Concordancia entre Ambos métodos: $30/31 \times 100 = 96.8\%$

Referencias

1. Piura, B., Sarov, I., Sarov, B., Kleinman, D., Chaim, W. and Insler, V. (1985) Serum IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in salpingitis patients as determined by the immunoperoxidase assay. Eur. J. Epidemiol. 1: 110-116.
2. Tsunekawa, T. and Kumamoto, Y. (1989) A study of IgA and IgG titers of *C. trachomatis* in serum and prostatic secretion in chronic prostatitis. J.J.A. Inf. Dis. 63(2): 130-137.
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. (1988) Serum IgA and IgG Antibodies Specific to *Chlamydia* in Patients with Rieter's Syndrome (RS) In: Proceedings of The European Society for *Chlamydia* Research, Societa Editrice Esculapio, Bologna, p.170.
5. Stutman, H.R., Rettig, P.J. and Reyes, S. (1984) *Chlamydia trachomatis* as a cause of Pneumonitis and pleural effusion. J. Pediat. 104: 588-591.
6. Paran, H., Heimer, D. and Sarov, I. (1986) Serological, clinical and radiological findings in adults with broncho-pulmonary infections caused by *Chlamydia trachomatis*. Isr. J. Med. Sci. 22: 823-827.
7. Grayston J. T., Campbell, L.A., Kuo, C.C., Mordhorst, C.H., Saikku, P., Thom, D.H. and Wang, S.P. (1990). A new respiratory tract pathogen. *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. J. Infect. Dis. 161:618-625.
8. Hahn D. L., Dodge, R. W. and Golubjatnikow, R. (1991). Association of *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma. JAMA 266: 225-230
9. Saikku P., Mattila, K., Nieminen, M.S., Huttunen, J.K., Leinonen, M., Ekman, M.R., Makela, P.H., and Valtonen, V. (1988). Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infection. Lancet II: 983-986.

10. **Sarov, I., Kleinman, D., Cevenini, R., Holcberg, G., Potashnik, G., Sarov, B. and Insler, V.** (1986) Specific IgG and IgA antibodies to Chlamydia trachomatis in infertile women. *Int. J. Fertil.* 31 (3): 193-197.
11. **Puolakkainen, M., Saikku, P., Leinonen, M., Nurminen, M., Vaananen, P. and Makela, P.H.** (1984) Chlamydia pneumonitis and its serodiagnosis in infants. *J. Infect. Dis.* 149: 598-604.
12. **Grayston, J.T., L.A. Campbell, C.H. Mordhorst, P. Saikku, D. Thom and S.P. Wang.** (1989) A New Respiratory Pathogen: Chlamydia pneumoniae Strain TWAR. *J.Inf.Dis.* 161: 618-25
13. **Saikku, P.,M. Leinonen, L. Tenkanen, E. Linnanmaki, M-R Ekman, V. Manninen, M. Manttari, M.H. Frick, J.K. Huttunen.** (1992) Chronic Chlamydiae pneumoniae Infection as a Risk Factor for Coronary Heart Disease in the Helsinki Heart Study. *Ann. of Int. Med.* 116: 273-278.
14. **Leinonen, M., H. Sryjala, P. Kujala and P. Saikku.** (1991). Serological diagnosis of Chlamydiae pneumoniae (Cpn) pneumoniae in adults. In: Abstracts of 31st ICAAC, Chicago, Illinois, Sept 29 - Oct 2, 1991. Washington, D.C. Aner. Soc. Microbiol, p.209.



European Authorized Representative: Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BELGIUM
Tel: +(32) 2. 732.59.54
Fax: +(32) 2.732.60.03
E-Mail : mail@obelis.net