

IVD

Instrucciones de uso (español)

1 Uso previsto

recomWell Chlamydia pneumoniae IgG, IgM e IgA es una prueba *in vitro* cualitativa (IgG, IgA, IgM) o cuantitativa (IgG, IgA), para la detección e identificación de anticuerpos IgG, IgM o IgA contra *Chlamydia pneumoniae* en suero o plasma humano. recomWell Chlamydia pneumoniae IgG, IgM o IgA es un ELISA indirecto. La prueba se puede llevar a cabo de forma manual o automatizada.

2 Campo de aplicación

Con recomWell Chlamydia pneumoniae se detectan anticuerpos IgG, IgM e IgA contra proteínas de la membrana externa del patógeno *Chlamydia pneumoniae*.

Las infecciones por este patógeno se transmiten por vía aérea y pueden provocar enfermedades de las vías respiratorias altas, de los bronquios y los pulmones. También se conoce su relación con otras enfermedades, como las cardiopatías coronarias (CPC). En la mayoría de los casos, la infección por *Chlamydia pneumoniae* es asintomática o solo ligeramente sintomática. La prevalencia del patógeno en la población adulta es aproximadamente del 50 %.

Los anticuerpos IgM, seguidos de los anticuerpos IgA, aparecen en un plazo de 2 a 4 semanas, los anticuerpos IgG de 6 a 8 semanas tras la infección inicial. Los anticuerpos IgG e IgA también pueden aparecer en reinfecciones y persistir durante mucho tiempo.

recomWell Chlamydia pneumoniae se puede utilizar para detectar el estado serológico o respaldar el diagnóstico de una infección aguda.

3 Principio de la prueba

Las placas microtituladoras de la prueba de detección están recubiertas con un complejo nativo purificado de proteínas procedentes de la membrana externa de cuerpos elementales y reticulares de *Chlamydia pneumoniae*.

Las muestras diluidas de suero o plasma se incuban en los pocillos de las placas microtituladoras, donde el anticuerpo específico se une a los antígenos patógenos en las superficies del fondo de los pocillos. A continuación, se eliminan los anticuerpos no ligados mediante lavado.

En un segundo paso se incuban en los pocillos los anticuerpos anti-inmunoglobulina humana (IgG, IgM o IgA), unidos a peroxidasa de rábano picante.

A continuación, se eliminan los anticuerpos conjugados no ligados mediante lavado.

Los anticuerpos específicamente ligados se detectan mediante una reacción colorimétrica catalizada por peroxidasa. Si ha tenido lugar una reacción de antígeno-anticuerpo, la solución de sustrato cromógeno se teñirá en función de la cantidad de anticuerpos IgG, IgM o IgA anti-*Chlamydia pneumoniae* ligados. La intensidad de la tinción se puede medir con un fotómetro y permite determinar la concentración de anticuerpos anti-*Chlamydia pneumoniae* presentes en la muestra.

4 Reactivos

4.1 Contenido del envase

Un envase contiene reactivos suficientes para 96 determinaciones.

Cada kit de reactivos contiene:

WASHBUF 10 X	100 ml de tampón de lavado (concentrado 10 veces). Contiene tampón de fosfato, NaCl, detergente. Conservantes: MIT (0,01 %) y oxipiriona (0,1 %)
DILUBUF	125 ml de tampón de dilución (listo para usar). Contiene proteínas, detergente y colorante azul. Conservantes: MIT (0,01 %) y oxipiriona (0,1 %)
SUBS TMB	12 ml de sustrato cromógeno tetrametilbencidina (TMB) (listo para usar)
SOLN STOP	12 ml de solución de parada ácido fosfórico (H ₃ PO ₄) al 24,9 % (lista para usar)
INSTRU	1 instrucciones de uso
EVALFORM	1 hoja de evaluación
TAPE	2 láminas de cubierta

recomWell Chlamydia pneumoniae IgG contiene además:

MTP	una placa microtituladora de 12x8 pocillos (tira marcada en rojo) recubierta con antígenos específicos de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en bolsa de cierre a presión al vacío.
CONTROL + IgG	450 µl de control positivo (tapón violeta), suero de conejo, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONTROL ± IgG	450 µl de control de corte (tapón amarillo), suero de conejo, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONTROL - IgG	450 µl de control negativo (tapón blanco), suero humano, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONJ IgG	500 µl de conjugado IgG-peroxidasa antihumano de cabra, conjugado IgG-peroxidasa anticonejo de origen porcino (concentrado 101 veces , tapón rojo) conservantes: tiomersal (<0,02 %), MIT (<0,01%) y clo-roacetamida (<0,1 %)

recomWell Chlamydia pneumoniae IgM contiene además:

MTP	una placa microtituladora de 12x8 pocillos (tira marcada en verde) recubierta con antígenos específicos de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en bolsa de cierre a presión al vacío.
CONTROL + IgM	450 µl de control positivo (tapón negro), suero de conejo, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONTROL ± IgM	450 µl de control de corte (tapón incoloro), suero de conejo, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONTROL - IgM	450 µl de control negativo (tapón blanco), suero humano, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONJ IgM	500 µl de conjugado IgM-peroxidasa antihumano de cabra, conjugado IgG-peroxidasa anticonejo de origen porcino (concentrado 101 veces , tapón verde) conservantes: tiomersal (<0,02 %), MIT (<0,01%) y clo-roacetamida (<0,1 %)

recomWell Chlamydia pneumoniae IgA contiene además:

MTP	una placa microtituladora de 12x8 pocillos (tira marcada en azul) recubierta con antígenos específicos de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en bolsa de cierre a presión al vacío.
CONTROL + IgA	450 µl de control positivo (tapón marrón), suero de conejo, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONTROL ± IgA	450 µl de control de corte (tapón naranja), suero de conejo, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONTROL - IgA	450 µl de control negativo (tapón blanco), suero humano, conservantes: MIT (0,1 %) y oxipiriona (0,1 %)
CONJ IgA	500 µl de conjugado IgA-peroxidasa antihumano de cabra, conjugado IgG-peroxidasa anticonejo de origen porcino (concentrado 101 veces , tapón azul), conservantes: tiomersal (<0,02 %), MIT (<0,01%) y clo-roacetamida (<0,1 %)

4.2 Otros reactivos, materiales y aparatos necesarios

- Agua desionizada
- Tubos de ensayo
- Agitadora vorticial u otros rotores
- Pipeta de 8 canales o lavadora con bomba
- Probetas graduadas limpias, 50 ml y 1000 ml
- Micropipetas con puntas desechables, 10 µl y 1000 µl
- Pipeta o dosificador de 10 ml
- Armario de incubación a 37 °C
- Fotómetro para placas microtituladoras
- Temporizador
- Guantes protectores desechables
- Contenedor de residuos para sustancias biopeligrosas

5 Vida útil y manipulación

- ✦ Conservar los reactivos antes y después del uso entre +2 y +8 °C, **no congelar**.
- ✦ Antes de iniciar el análisis, se deben templar todos los componentes como mínimo durante 30 minutos a la temperatura ambiente (entre +18 y +25 °C).
- ✦ Los componentes tampón diluyente, tampón de lavado, sustrato y disolución de parada para las pruebas *recomWell* se pueden utilizar con todos los parámetros y lotes. Se deberá observar la estabilidad de estos componentes.
- ✦ Los sueros de control y los conjugados están vinculados al lote del producto y no se deben usar con todos los parámetros y lotes.
- ✦ Antes de utilizarlos, los conjugados concentrados, los controles y las muestras de los pacientes se deben mezclar bien. Se debe evitar la formación de espuma.
- ✦ Todas las placas microtituladoras MIKROGEN están provistas de barras de rotura.
- ✦ Las láminas de cubierta están destinadas al uso único.
- ✦ Los envases llevan una fecha de caducidad, a partir de la cual ya no se concederá ninguna garantía de calidad.
- ✦ Los componentes del kit se deben proteger de la luz solar directa durante toda la ejecución de la prueba. La solución de sustrato (TMB) en particular es fotosensible.
- ✦ La prueba la debe llevar a cabo exclusivamente personal especializado debidamente formado y autorizado.
- ✦ Si el usuario ha realizado modificaciones sustanciales del producto o de las instrucciones de uso, es posible que la aplicación ya no cumpla el propósito especificado por MIKROGEN.
- ✦ La contaminación cruzada de las muestras de los pacientes o de los conjugados puede producir resultados de análisis incorrectos. Añada cuidadosamente las muestras de paciente y la solución de conjugado. Evite arrastrar las soluciones de incubación a otros pocillos.
- ✦ Es posible una automatización; solicite más información a MIKROGEN.

6 Advertencias y medidas de seguridad

- ✦ El producto se debe utilizar exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
- ✦ Todos los hemoderivados se deben tratar como potencialmente infecciosos.
- ✦ Los pocillos de microtitulación se han recubierto con antígenos procedentes del lisado de células enteras inactivadas, bacterianos o virales.
- ✦ Tras la adición del material del paciente o de control, los pocillos de microtitulación se deben considerar potencialmente infecciosos y tratar correspondientemente.
- ✦ Para la elaboración del material de control se utiliza sangre de donantes en los que no se han detectado anticuerpos frente al VIH 1/2, el VHC ni antígeno HBs. No obstante, como no se puede descartar con certeza una infección, el material de control se debe tratar con el mismo cuidado que una muestra de paciente.
- ✦ Durante todo el procedimiento de prueba se deben usar guantes desechables adecuados.
- ✦ Los conjugados, así como los tampones de lavado y de dilución contienen los antimicrobianos y conservantes tiomersal, MIT (metilisotiazolinona), oxipiriona y cloroacetamida. Se debe evitar el contacto con la piel o las mucosas.
- ✦ El ácido fosfórico es irritante. Es absolutamente imprescindible evitar el contacto con la piel y las mucosas.
- ✦ Se deben recoger todos los líquidos eliminados. Todos los recipientes de recogida deben contener desinfectantes adecuados para inactivar los patógenos para el ser humano. Todos los reactivos y materiales que entran en contacto con muestras potencialmente infecciosas se deben tratar con desinfectantes adecuados o eliminar de acuerdo con las normas de higiene. Se deben observar las concentraciones y los tiempos de incubación especificados por los fabricantes.
- ✦ Utilice los pocillos de microtitulación solo una vez.
- ✦ No sustituya ni mezcle los reactivos con reactivos de otros fabricantes.
- ✦ Lea y observe detenidamente las instrucciones de uso completas antes de iniciar la prueba. Las desviaciones del protocolo de análisis indicado en las instrucciones de uso puede producir resultados incorrectos.

7 Obtención de muestras y preparación

7.1 Material de muestra

El material de muestra puede ser suero o plasma (EDTA, citrato, heparina, CPD) que se debe separar lo antes posible del coágulo sanguíneo tras la extracción, para evitar una posible hemólisis. Es imprescindible evitar una contaminación microbiana de la muestra. Las sustancias involubles se deben eliminar de la muestra antes de iniciar la incubación.

Se recomienda no utilizar muestras desactivadas por calor, ictéricas, hemolíticas, lipémicas o turbias.

¡Atención!

Si los análisis no se van a realizar inmediatamente, el material de muestra se puede conservar hasta 2 semanas entre +2 y +8 °C. Las muestras se pueden conservar durante más tiempo a temperaturas de -20 °C o inferiores. No se recomienda congelar y descongelar repetidas veces las muestras debido al riesgo de obtener resultados incorrectos. Evite más de 3 ciclos de congelación y descongelación de las muestras.

7.2 Elaboración de las soluciones

Los reactivos de detección son suficientes para 96 comprobaciones. Las cantidades especificadas a continuación se refieren al procesamiento de una tira de placas microtituladoras con 8 pocillos. Si se utilizan simultáneamente varias tiras de placas microtituladoras, se deberán multiplicar las cantidades especificadas por el número de tiras de placas microtituladoras utilizadas. Se deberá tener en cuenta el volumen muerto específico del aparato. El tampón de dilución y las soluciones de sustrato y de parada están listos para usar.

7.2.1 Elaboración del tampón de lavado

El concentrado de tampón de lavado se diluye a **1 + 9** con H₂O desionizada. Para cada tira de placas microtituladoras con 8 pocillos se mezclan 5 ml de concentrado con 45 ml de H₂O desionizada. El tampón de lavado listo para usar se puede conservar durante cuatro semanas a entre +2 y +8 °C o una semana a temperatura ambiente.

7.2.2 Elaboración de la solución de conjugado

Para cada tira de placas microtituladoras de 8 pocillos se introducen 1 ml de tampón de dilución y 10 µl de conjugado de Ig-peroxidasa (tapón rojo) o 10 µl de conjugado de IgM-peroxidasa (tapón verde) o 10 µl de conjugado de IgA-peroxidasa (tapón azul) en un recipiente limpio y se mezclan bien (dilución **1 + 100**). La solución de conjugado se debe elaborar poco antes del uso, ya que no es posible conservar una solución de conjugado lista para usar.

8 Procedimiento de análisis

N.º	Ejecución	Observación
1	Antes de iniciar el análisis, se deben templar todos los reactivos como mínimo 30 minutos a entre +18 y +25 °C (temperatura ambiente).	Para evitar la condensación de agua en la placa microtituladora, es necesario dejar que se ajuste a la temperatura ambiente en la bolsa cerrada . Tras extraer las tiras necesarias, la placa se debe volver a sellar en la bolsa e introducir en la nevera. Antes de utilizarlos, mezclar bien los sueros de control y las muestras de paciente, así como los conjugados concentrados y, si es posible, centrifugarlos después brevemente para recoger el líquido en el fondo de los tubos.
2	<u>Preparación de las muestras y de los controles</u> Pipetear 10 µl de muestra o control en 1 ml de tampón de dilución y mezclar bien (dilución 1 + 100).	Las muestras y los controles siempre se deben diluir justo antes de realizar la prueba. Cada vez que se prepare una prueba, es necesario incluir todos los controles, que también se diluirán igual que las muestras de paciente.
3	<u>Incubación de muestras</u> Pipetear 100 µl de muestra diluida o control diluido por pocillo e incubar 1 hora a +37 °C .	Crear al menos un valor a partir del control negativo, el control positivo y las muestras de paciente. El control de corte se debe crear dos veces. Preferentemente se pipeteará un control de corte al principio y al final de la serie. En caso de un procesamiento manual, la placa microtituladora se debe cubrir cuidadosamente con una lámina de cubierta nueva. Utilizar un armario de incubación a +37 °C.

4	<u>Lavado</u>	Se recomienda realizar este paso con una lavadora ELISA adecuada. Es esencial asegurarse de eliminar completamente el tampón de lavado entre los pasos de lavado.
a)	Retirar con cuidado la lámina de cubierta.	
b)	Vaciar completamente los pocillos.	Aspirarlos o verter el contenido y vaciarlos con golpes suaves.
c)	Llenar los pocillos con 300 µl de tampón de lavado listo para usar (ver 7.2.1) → 8.4b.	Repetir los pasos de lavado 8.4b y 8.4c un total de cuatro veces .
5	<u>Incubación con conjugado</u> Añadir 100 µl de solución de conjugado diluida (ver 7.2.2) e incubar 30 minutos a +37 °C .	En caso de un procesamiento manual, la placa microtituladora se debe cubrir cuidadosamente con una lámina de cubierta nueva.
6	<u>Lavar</u> (ver 8.4b y 8.4c)	Realizar los pasos de lavado un total de cuatro veces .
7	<u>Reacción del sustrato</u> Pipetear 100 µl de solución de sustrato lista para usar en cada pocillo e incubar 30 minutos a temperatura ambiente . El tiempo empieza a contar a partir del pipeteo del primer pocillo.	No es necesario cubrir la placa. Proteger de la luz solar directa.
8	<u>Interrumpir la reacción</u> Añadir con la pipeta 100 µl de solución de parada lista para usar a cada pocillo.	¡No eliminar la solución de sustrato antes de añadir la solución de parada! Se debe seguir el mismo esquema de pipeteo aplicado para la disolución de sustrato.
9	<u>Medición de las absorbencias</u> Las absorbencias de cada pocillo se miden con un fotómetro para placas microtituladoras a 450 nm y a una longitud de onda de referencia de 620 nm (valores admisibles entre 620 y 650 nm).	El ajuste a cero se realiza con respecto al aire. La medición se debe realizar en un plazo de 60 minutos después de la interrupción de la reacción.
¡Atención! Se debe evitar el arrastre de las soluciones de incubación a otros pocillos. Se deben evitar las salpicaduras, especialmente al despegar y colocar la lámina de cubierta.		

9 Resultados

9.1 Evaluación

Valor de corte (umbral) = el valor medio se genera a partir de los valores de absorbencia de los dos controles de corte (al principio y al final de la serie).

9.1.1 Evaluación cualitativa

Zona gris	límite inferior = valor de corte límite superior = valor de corte + 20 % (valor de corte x 1,2)
Negativo	Muestras con valores de absorbencia inferiores a la zona gris
Límitrofe	Muestras con valores de absorbencia dentro de la zona gris
Positivo	Muestras con valores de absorbencia superiores a la zona gris

9.1.2 Evaluación cuantitativa

A los valores de absorbencia se les asigna por medio de una fórmula la actividad de anticuerpos correspondiente en **unidades por ml**. La unidad de medida U/ml es una unidad arbitraria que no permite sacar conclusiones directas sobre los valores de referencia (internacionales).

U/ml de muestra	(absorbencia muestra/absorbencia valor de corte) x 20
Zona gris	límite inferior = 20 U/ml límite superior = 24 U/ml
Negativo	U/ml de muestra <20
Límitrofe	20 ≤ U/ml de muestra ≤ 24
Positivo	U/ml de muestra >24

Se recomienda volver a analizar las muestras que presenten un resultado de análisis límitrofe en un plazo de dos a cuatro semanas. Si se vuelve a obtener un valor límitrofe después del segundo análisis, se recomienda extraer otra muestra y analizarla después de cierto tiempo.

La linealidad de la prueba se pudo demostrar durante la evaluación dentro del siguiente intervalo de medición:
IgG: 20 U/ml hasta 65 U/ml (R² = 0,95)
IgA: 20 U/ml hasta 56 U/ml (R² = 0,95)
IgM: no se detectó ningún suero >35 U/ml entre los 1000 sueros con sospecha de neumonía de la evaluación del rendimiento; no fue posible determinar la linealidad.

Con una absorbencia ≥3,0 o con un valor de medición superior a este intervalo lineal, el resultado para IgG se deberá indicar con >65 U/ml o para IgA con >56 U/ml o la muestra se deberá diluir y volver a analizar. Recomendamos inicialmente una dilución final de 1:500 y, en caso necesario, pasos de dilución adicionales.

9.1.3 Validación - Control de calidad

La prueba se puede evaluar en las condiciones siguientes:

- Los valores de absorbencia individuales de la doble determinación del control de corte no se desvían de su media en más del 20 %.
- Absorbencia del control negativo ≤0,150
- Absorbencia del control de corte – Absorbencia del control negativo ≥0,050 (E_{Valor de corte} - E_{contr. neg.} ≥0,050)
- Absorbencia del control positivo > absorbencia del control de corte (E_{contr. pos.} > E_{Valor de corte})

Los controles sirven para validar los resultados de la prueba, de acuerdo con este capítulo. La determinación de anticuerpos específicos en relación con el control de corte en U/ml aumenta la reproducibilidad de los resultados, ya que también se incluyen las variaciones debidas a la realización de la prueba. No es necesaria una evaluación de los controles positivo y negativo para la validación de la prueba. Sin embargo, en caso necesario se puede efectuar con fines de control de calidad interno. En este caso, los resultados deben estar dentro de los valores objetivo especificados en el certificado de análisis o en la etiqueta.

9.2 Interpretación de la prueba

Posibles resultados			Interpretación
IgM	IgA	IgG	
+	+	+	Indicio serológico de una infección aguda.
+	+	-	Indicio serológico de una infección aguda. Comprobación del estado de las IgG tras dos a cuatro semanas.
+	-	+	Indicio serológico de una infección aguda.
-	+	+	Indicio serológico de una infección aguda.
+	-	-	Indicio serológico de una fase de infección temprana. Comprobación de las IgM, IgA e IgG tras dos a cuatro semanas.
-	+	-	Indicio serológico de una fase de infección temprana o de IgA persistente solitaria. Comprobación de las IgM, IgA e IgG tras dos a cuatro semanas.
-	-	+	Indicio serológico de una infección pasada o existente. En caso de sospecha clínica, comprobar la presencia de IgA e IgG al cabo de dos a cuatro semanas.
-	-	-	Ningún indicio serológico de una infección existente o superada. En caso de sospecha clínica, comprobar la presencia de IgM, IgA e IgG al cabo de dos a cuatro semanas.

Es probable una infección aguda por Chlamydia pneumoniae si el título de IgG aumenta significativamente en el curso de la infección.

10 Límites del método, limitaciones

- Los resultados de análisis serológicos deben contemplarse siempre en relación con el cuadro clínico. Las consecuencias terapéuticas del diagnóstico serológico se determinarán en relación con los datos clínicos.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por Chlamydia pneumoniae. En caso de sospecha clínica de infección por Chlamydia pneumoniae y un diagnóstico serológico negativo, se recomienda llevar a cabo otra toma de muestras y un análisis transcurridas dos semanas.
- Se pueden producir resultados negativos falsos si las muestras de suero se han obtenido muy poco después de una infección.
- Un resultado positivo de recomWell Chlamydia pneumoniae no significa necesariamente la existencia de un proceso patológico activo.
- Además de los valores determinados en el laboratorio, siempre se deben incluir en el diagnóstico de una infección por Chlamydia pneumoniae el cuadro clínico y, si procede, la anamnesis.

- Para la evaluación del estado inmunitario relativo a Chlamydia pneumoniae, siempre se deberán considerar conjuntamente los resultados de la detección de IgM, IgA e IgG.
- Recomendamos en general que los resultados positivos y límite de ELISA se vuelvan a comprobar mediante una prueba confirmatoria.

11 Características de rendimiento

11.1 Seroprevalencia de anticuerpos contra Chlamydia pneumoniae en donantes de sangre

n = 200	recomWell Chlamydia pneumoniae IgG	recomWell Chlamydia pneumoniae IgA	recomWell Chlamydia pneumoniae IgM
positivo	69	5	0
límitrofe	10	4	0
negativo	121	191	200
Seroprevalencia (positiva y límite)	39,5 %	4,5 %	0 %

Procedencia de las muestras: Bayerisches Rotes Kreuz (Cruz Roja Bávara)

11.2 Rendimiento diagnóstico (coincidencia positiva y negativa con MIF (MI, MC Phoon 2011)

IgG:

Se analizó un grupo de rutina de 81 sueros con sospecha de neumonía atípica mediante una prueba comercial de microinmunofluorescencia (MIF IgG) y se utilizó como referencia para el desarrollo de la prueba recomWell Chlamydia pneumoniae (evaluación MIF $\geq 1:32$ = positivo y $< 1:32$ = negativo, según la recomendación del laboratorio de referencia para clamidias); muestras positivas n=42, muestras negativas n=39.

Positivos y límite (n=42 tras prueba MIF (IgG) $\geq 1:32$)	recomWell Chlamydia pneumoniae (IgG)	Confirmación de resultados recomWell IgG positivos con recomLine (IgG)	Prueba A comercial	Prueba B comercial
Concordancia positiva	83,3 %	73,8 %	97,6 %	100 %

Negativos (n=39 tras prueba MIF (IgG) $< 1:32$)	recomWell Chlamydia pneumoniae (IgG)	Confirmación de resultados recomWell IgG positivos con recomLine (IgG)	Prueba comparativa A	Prueba comparativa B
Concordancia negativa	74,4 %	92,3 %	43,6 %	46,2 %

IgA:

Se analizó un grupo de sueros de pacientes ingresados en hospitales con diferentes diagnósticos y diagnosticados de neumonía atípica como hallazgo fortuito (IgA positivos n=16 con prueba MIF (IgA) $\geq ++$; IgG positivos y simultáneamente IgA negativos n=13 con prueba MIF (IgA) $< ++$). En algunos de estos pacientes se confirmó la neumonía bacteriana se confirmó por medio de examen radiográfico.

En la evaluación de la prueba se incluyeron dos grupos de control.

Grupo 1: grupo de control negativo (n=26, MIF $< ++$, Hospital Clínico de Jena);

Grupo 2: grupo de control con posible reactividad cruzada (n=3, IgG positivo para Chlamydia trachomatis en la prueba MIF, prueba MIF para Chlamydia pneumoniae (IgG) $< 1:32$ y simultáneamente prueba MIF (IgA) negativa).

recomWell Chlamydia pneumoniae IgA	Chlamydia pneumoniae – seronegativo tras prueba MIF (IgA) $< ++$ n=42 (13 +26 +3)	Chlamydia pneumoniae – seropositivo tras prueba MIF (IgA) $\geq ++$ n=16
Concordancia positiva	-	87,5 %
Concordancia negativa	83,3 %	-

Para la IgM no se pudo determinar ninguna sensibilidad, porque no se disponía de sueros IgM positivos.

11.3 Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la aptitud de la prueba para determinar con precisión los analitos en presencia de posibles factores interferentes en la matriz de la muestra o en reacciones cruzadas con anticuerpos potencialmente interferentes.

a) **Interferencias.** Los estudios de control de posibles factores interferentes han mostrado que el rendimiento de la prueba no se ve afectado por los anticoagulantes (citrato sódico, EDTA, heparina, CPD). En casos aislados se pueden producir interferencias por lipemia o bilirrubinemia de la muestra.

b) **Reacciones cruzadas:** Raras veces se pueden producir interferencias con anticuerpos anti-VEB. Se pueden excluir en gran medida posibles interferencias de otras afecciones derivadas de una actividad atípica del sistema inmunitario (autoanticuerpos antinucleares, embarazo). Excepción: Raras veces, la interferencia con el factor reumatoide puede dar lugar a resultados positivos falsos con recomWell Chlamydia pneumoniae IgG.

Ocasionalmente, los sueros IgG positivos frente a Chlamydia trachomatis también pueden mostrar resultados positivos falsos con el recomWell Chlamydia pneumoniae IgG.

Para determinar la especificidad analítica frente a anticuerpos potencialmente interferentes se utilizaron los sueros siguientes:

Donantes de sangre (n = 200)

- Sueros de pacientes con neumonía, probablemente causada por Mycoplasma pneumoniae, IgM positivos (n = 10)
- Sueros IgG positivos frente a Chlamydia trachomatis (n = 20)
- Sueros IgG e IgA positivos frente a Chlamydia trachomatis (n = 10)
- Sueros positivos frente al factor reumático (n = 50)
- Sueros IgM positivos frente al VEB (infección aguda por VEB) (n = 29)
- Sueros ictericos (n = 9)
- Sueros lipémicos (n = 10)

Positividad (positivos y límite) en %	recomWell Chlamydia pneumoniae			Prueba comparativa A comercial			Prueba comparativa B comercial		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
Donantes de sangre (n = 200)	39,5	4,5	0	74	38	1	63	54,5	7
Mycoplasma pneumoniae, IgM positivos (n = 10)**	30	0	0	40	30	10	40	30	40
Chlamydia trachomatis IgG positivos (n = 20) o IgG, IgA positivos (n = 10)***	73,3	3,3	0	83,3	33,3	0	86,7	60	6,7
Sueros de factor reumatoide (n = 50)	56	22	4	n.c.*	n.c.	n.c.	76	70	12
Sueros VEB IgM positivos (n = 29)****	41,4	3,4	24,1	48,3	34,5	27,6	51,7	60	96,6
Sueros ictericos (n = 9)	88,9	11,1	0	100	55,6	0	100	77,8	100
Sueros lipémicos (n = 10)	70	20	0	90	90	0	90	100	20

* no comprobado

** comprobado con un ELISA comercial para Mycoplasma pneumoniae

*** comprobado con recomLine Chlamydia

**** comprobado con recomLine VEB

11.4 Precisión

	recomWell Chlamydia pneumoniae IgG	recomWell Chlamydia pneumoniae IgA	recomWell Chlamydia pneumoniae IgM
Varianza intranalítica*	CV <6,1 %	CV <9,9 %	CV <5,3 %
Varianza interanalítica**	CV <5,2 %	CV <10,4 %	CV <8,2 %

* Se analizaron tres muestras de pacientes positivas o límite de referencia en respectivamente 10, 11 o 12 pocillos dispuestos en diagonal en una placa microtituladora. Se calculó el coeficiente de variación (CV) para las U/ml de las muestras.

** Se analizaron tres muestras de pacientes positivas o límite de referencia de diferentes absorbencias como determinaciones por cuadruplicado en tres días diferentes. Se calculó el coeficiente de variación (CV) para las U/ml de las muestras.

12 Bibliografía

1. K.S. Rahman, E.U. Chowdhury, A. Poudel, A. Ruetter, K. Sachse, B. Kaltenboeck; *Defining species-specific immunodominant B cell epitopes for molecular serology of Chlamydia species*; Clin Vaccine Immunol., 2015 May, 22 (5): 539-52
2. R. Dumke, C. Schnee, M.W. Pletz, J. Rupp, E. Jakobs, K. Sachse, G. Rohde, CAPNETZ Study Group; *Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia spp. Infection in Community-Acquired Pneumonia, Germany, 2011-2012*; Emerging Infectious Diseases Vol. 21, No. 3, March 2015
3. L. Conklin, J. Adjemian, J. Loo, S. Mandal, C. Davis, S. Parks, T. Parsons, B. McDonough, J. Partida, K. Thumann, M. H. Diaz, A. Benitez, T. Pondo, C. G. Whitney, J.M. Winchell, N. Kendig, C. Van Beneden; *Investigation of a Chlamydia pneumoniae Outbreak in a Federal Correctional Facility in Texas*; Clin Infect Dis. 2013 September; 57(5): 639-647
4. M. C. Phoon, G. W. J. Yee, W-P. Koh, V. T. K. Chow; *Comparative Seroepidemiologic Analysis of Chlamydia pneumoniae Infection using Microimmunofluorescence, Enzyme Immunoassay and Neutralization Test: Implications for Serodiagnosis*; Indian J. Microbiol (Apr-June 2011) 51 (2); 223-229
5. V. Forsbach-Birk, U. Simnacher, K.-I. Pfrepper, E. Soutschek, A. O. Kiselev, M. F. Lampe, T. Meyer, E. Straube, A. Essig; *Identification and Evaluation of a combination of chlamydial antigens to support the diagnosis of severe and invasive Chlamydia trachomatis infections*; Journal Compilation 2009 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2009
6. N. Wellinghausen, E. Straube, H. Freidank, H. von Braun, R. Marre, A. Essig; *Low prevalence of Chlamydia pneumoniae in adults with community-acquired pneumonia*; Int J Med Microbiol. 2006 Nov; 296 (7); 485-91. Epub 2006 Aug 4.
7. S. Mukhopadhyay, A. P. Clark, E. D. Sullivan, R. D. Miller, J. T. Summersgill; *Detailed Protocol for Purification of Chlamydia pneumoniae Elementary Bodies*; Journal of Clinical Microbiology, July 2004, p. 3288-3290
8. L. A. Campbell, C.-C. Kuo, J. T. Grayston; *Structural and Antigenic Analysis of Chlamydia pneumoniae*; Infection and Immunity, Jan. 1990, p. 93-97

Si lo solicita, le enviaremos con mucho gusto bibliografía más detallada sobre el diagnóstico de clamidias.

13 Explicación de los símbolos

	Contenido suficiente para <n> análisis Número de preparaciones
WASHBUF 10 X	Tampón de lavado (concentrado 10 veces)
DILUBUF	Tampón de dilución
SUBS TMB	Sustrato cromógeno tetrametilbencidina
SOLN STOP	Solución de parada
TAPE	Lámina de cobertura
MTP	Placa microtituladora
CONTROL + IgG	Control positivo IgG
CONTROL ± IgG	Control de corte IgG
CONTROL - IgG	Control negativo IgG
CONJ IgG	Conjugado IgG-peroxidasa
CONTROL + IgM	Control positivo IgM
CONTROL ± IgM	Control de corte IgM
CONTROL - IgM	Control negativo IgM
CONJ IgM	Conjugado IgM-peroxidasa
CONTROL + IgA	Control positivo IgA
CONTROL ± IgA	Control de corte IgA
CONTROL - IgA	Control negativo IgA
CONJ IgA	Conjugado IgA-peroxidasa
TVALUE	Valor objetivo o intervalo de valores objetivo en U/ml
EVALFORM	Hoja de evaluación
INSTRU	Instrucciones de uso
	Observar las instrucciones de uso
CONT	Contenido, contiene
IVD	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>
LOT	Número de lote/versión
	No congelar

REF	Número de pedido
	Consumir preferentemente antes del Fecha de caducidad
	Conservación entre x °C y y °C
	Fabricante

14 Datos del fabricante y de la versión

recomWell Chlamydia pneumoniae IgG	N.º de artículo 6104
recomWell Chlamydia pneumoniae IgM	N.º de artículo 6105
recomWell Chlamydia pneumoniae IgA	N.º de artículo 6106
Instrucciones de uso válidas a partir de	GARECP005ES 2023-06
	MIKROGEN GmbH Anna-Sigmund-Str. 10 82061 Neuried Alemania Tel. +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 Correo electrónico mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de



GARECP005