



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES  
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)  
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

PROCEDIMIENTO DE  
OPERACIÓN NORMADO  
ESPECIFICO

**P-DCF-ECT-BQM-54**

**PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE  
ANTICUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPO-  
NEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG  
ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE  
ELISAPROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN  
DE ANTICUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TRE-  
PONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO  
IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS ME-  
DIANTE ELISA**

VERSIÓN: 01

Rige desde: 24/04/2024

PAGINA: 1 de 11

**Elaborado o modificado por:**

**Dr. José López Chacón**  
Perito Judicial 2B, Sección Bioquímica

**Revisado por Líder Técnico:**

**Dra. Anayanci Rodríguez Quesada**  
Líder Técnico Sección de Bioquímica

**Visto Bueno Encargado de Calidad:**

**Dr. Alejandro Hernández Bolaños**  
Encargado de Calidad de la Sección de  
Bioquímica

**Aprobado por:**

**Dra. Eugenia Fernández Mora**  
Jefatura, Sección de Bioquímica



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES  
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)  
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

PROCEDIMIENTO DE  
OPERACIÓN NORMADO  
ESPECIFICO

**P-DCF-ECT-BQM-54**

**PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE  
ANTICUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPO-  
NEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG  
ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE  
ELISAPROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN  
DE ANTICUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TRE-  
PONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO  
IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS ME-  
DIANTE ELISA**

VERSIÓN: 01

Rige desde: 24/04/2024

PAGINA: 2 de 11

### CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

<b>Versión</b>	<b>Fecha de Aprobación</b>	<b>Fecha de Revisión</b>	<b>Descripción del Cambio</b>	<b>SCD</b>	<b>Solicitado por</b>
01	26/03/2019	05/02/2021	Nuevo procedimiento	04-2019	EFM
01	05/02/2021	24/04/2024	No se requieren cambios. Se mantiene la misma versión.	06-2021	EFM
01	24/04/2024		No se requieren cambios. Se mantiene la misma versión.	09-2024	EFM

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL  
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES  
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**

**La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada**

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 3 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

### 1 Objetivo:

El objetivo de este Procedimiento Operativo Normado (PON) es establecer los pasos a seguir para el procesamiento de muestras de suero para la detección de anticuerpos tipo IgG/IgM anti-*Treponema pallidum* y/o anticuerpos tipo IgG anti- *Chlamydia trachomatis* mediante la técnica de ELISA en la Sección de Bioquímica.

### 2 Alcance:

Este procedimiento se emplea para el procesamiento de muestras de suero para la detección de anticuerpos tipo IgG/IgM anti-*Treponema pallidum* y/o anticuerpos tipo IgG anti-*Chlamydia trachomatis* solicitada por las autoridades judiciales.

### 3 Referencias:

- Inserto de la prueba *Treponema pallidum* IgG ELISA DRG.
- Inserto de la prueba *Treponema pallidum* IgM ELISA DRG.
- Inserto de la prueba *Chlamydia trachomatis* IgG ELISA IBL Internacional.

### 4 Equipos y Materiales:

- Basurero para descarte de material biopeligroso punzocortante
- Erlenmeyer de 250 mL
- Gabacha blanca
- Guantes desechables de látex o similar
- Incubadora Fisher Scientific o similar con temperatura a 37 °C
- Lector de placas marca Rayto o similar
- Micropipeta de 5-50 uL
- Micropipeta de 20-200 uL
- Micropipeta de 100-1000 uL
- Micropipeta multicanal de 30-300 uL
- Microplaca recubierta IgG anti-*Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Microplaca recubierta IgM anti-*Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Microplaca recubierta IgG anti-*Chlamydia trachomatis* (Kit comercial)
- Plástico adhesivo (Kit comercial)

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 4 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

- Probeta de 10 mL
- Probeta de 200 mL
- Puntas para micropipeta de 5-50 uL
- Puntas para micropipeta de 20-200 uL
- Puntas para micropipeta de 100-1000 uL
- Puntas para micropipeta multicanal de 30-300 uL
- Refrigerador con temperatura a 4 °C
- Reloj con cronómetro
- Termómetro
- Toallas de papel absorbente desechables
- Tubo de plástico tipo eppendorf
- Vórtex

##### **5 Reactivos y Materiales de Referencia:**

- Agua destilada tipo Milli Q o similar.
- Alcohol 70%
- Conjugado IgG *Chlamydia trachomatis* (Kit comercial)
- Conjugado IgG *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Conjugado IgM *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Control cut-off IgG *Chlamydia trachomatis* (Kit comercial)
- Control cut-off IgG *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Control cut-off IgM *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Control negativo IgG *Chlamydia trachomatis* (Kit comercial)
- Control negativo IgG *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Control negativo IgM *Treponema pallidum* (Kit comercial)

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 5 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

- Control positivo IgG *Chlamydia trachomatis* (Kit comercial)
- Control positivo IgG *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Control positivo IgM *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Diluyente para muestras IgG *Chlamydia trachomatis* (Kit comercial)
- Diluyente para muestras para IgG *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Diluyente para muestras para IgM *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- IgG-RF-Sorbente para IgM *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Solución de parada para IgG *Chlamydia trachomatis* (Kit comercial)
- Solución de parada para IgG *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Solución de parada para IgM *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Tampón de lavado para IgG *Chlamydia trachomatis* (Kit comercial)
- Tampón de lavado para IgG *Treponema pallidum* (Kit comercial)
- Tampón de lavado para IgM *Treponema pallidum* (Kit comercial)

## 6 Condiciones Ambientales:

El procedimiento para el procesamiento para la detección de anticuerpos tipo IgG/IgM anti-*Treponema pallidum* y/o detección de anticuerpos tipo IgG anti-*Chlamydia trachomatis* mediante ELISA debe efectuarse en las áreas designadas para el análisis de muestras, en el Laboratorio de la Sección de Bioquímica.

## 7 Procedimiento:

**Nota 1:** Antes de iniciar cualquier procedimiento colóquese guantes desechables y gabacha, al inicio y al final del procedimiento limpie la mesa de trabajo con una toalla de papel desechable con alcohol al 70%.

### 7.1 Revisión de la solicitud de dictamen pericial:

**7.1.1** Revise detalladamente los datos suministrados y los análisis indicados en la solicitud de dictamen pericial F-083i.

### 7.2 Preparación de reactivos y muestras

**7.2.1** Lleve todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente (20-25 °C).

**7.2.2** Diluya el tampón de lavado 1/20, mida 190 mL de agua destilada tipo Milli Q o similar en una probeta de 200 mL y 10 mL del tampón de lavado en una probeta de 10 mL y agregue ambos a un erlenmeyer de 250 mL, según el análisis a realizar.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 6 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

**7.2.2.1 *Treponema pallidum*:** Este tampón de lavado diluido es estable 4 semanas a una temperatura de 2-8 °C. El volumen necesario por pocillo es de aproximadamente 3,5 mL, por lo que se debe preparar el volumen requerido según la cantidad de muestras de cada montaje.

**7.2.2.2 *Chlamydia trachomatis*:** Este tampón de lavado diluido es estable 5 días a temperatura ambiente (20-25 °C). El volumen necesario por pocillo es de aproximadamente 2 mL, por lo que se debe preparar el volumen requerido según la cantidad de muestras de cada montaje.

**7.2.3** Mezclar bien.

**7.2.4** Rotule con el número BQM los tubos de plástico tipo eppendorf a utilizar.

**7.2.5 *Treponema pallidum* IgG:**

**7.2.5.1** Agregue 1 mL de diluyente para IgG *Treponema pallidum* a cada uno de los tubos de plástico tipo eppendorf utilizando la micropipeta de 100-1000 uL.

**7.2.5.2** Agregue 10 uL de la muestra a cada uno de los correspondientes tubos de plástico tipo eppendorf rotulados utilizando la micropipeta de 5-50 uL.

**7.2.5.3** Mezcle en el vórtex durante 4 segundos.

**7.2.5.4** Deje reposar durante al menos 15 minutos y mezcle de nuevo en el vórtex durante 4 segundos.

**7.2.6 *Treponema pallidum* IgM:**

**7.2.6.1** Agregue 0,5 mL de diluyente de muestra para IgM *Treponema pallidum* a cada uno de los tubos de plástico tipo eppendorf utilizando la micropipeta de 100-1000 uL.

**7.2.6.2** Agregue 10 uL de la muestra a cada uno de los correspondientes tubos de plástico tipo eppendorf rotulados utilizando la micropipeta de 5-50 uL.

**7.2.6.3** Mezcle en el vórtex durante 4 segundos.

**7.2.6.4** Mezcle bien el IgG-RF-Sorbente.

**7.2.6.5** Diluya la muestra prediluida 1/2, agregue en un tubo tipo eppendorf 60 uL de muestra prediluida y 60 uL de IgG-RF-Sorbente utilizando la micropipeta de 20-200 uL.

**7.2.6.6** Mezcle en el vórtex durante 4 segundos.

**7.2.6.7** Deje reposar a temperatura ambiente durante al menos 15 minutos, hasta un máximo de 2 horas y mezcle de nuevo en el vórtex durante 4 segundos.

**7.2.7 *Chlamydia trachomatis* IgG:**

**7.2.7.1** Agregue 1 mL de diluyente para muestras IgG *Chlamydia trachomatis* a cada uno de los tubos de plástico tipo eppendorf utilizando la micropipeta de 100-1000 uL.

**7.2.7.2** Agregue 10 uL de la muestra a cada uno de los correspondientes tubos de plástico tipo eppendorf rotulados utilizando la micropipeta de 5-50 uL y mezcle en el vórtex durante 4 segundos.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 7 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

### 7.3 Montaje de las muestras

7.3.1 Realice el esquema de montaje.

7.3.2 Deje el pocillo A1 de la microplaca libre para el blanco de sustrato.

7.3.3 Coloque 100 uL de los controles (negativo, cut-off y positivo) en la microplaca recubierta IgG anti-*Treponema pallidum* o en la microplaca recubierta IgM anti-*Treponema pallidum* o en la microplaca recubierta IgG anti-*Chlamydia trachomatis* según el esquema de montaje.

**Nota 2:** Para *Chlamydia trachomatis* coloque los todos los controles por duplicado y para *Treponema pallidum* coloque por duplicado solamente el control cut-off; no se debe colocar por duplicado el control negativo ni el control positivo.

7.3.4 Coloque 100 uL de las muestras diluidas en cada pocillo por separado según el esquema de montaje utilizando la micropipeta de 20-200 uL.

7.3.5 Recubra las tiras de la microplaca con el plástico adhesivo suministrado en el kit.

7.3.6 Incube 1 hora a 37 °C en la incubadora Fisher Scientific o similar.

7.3.7 Retire el adhesivo.

7.3.8 Descarte el líquido de los pocillos de forma vigorosa.

#### 7.3.9 *Treponema pallidum*:

7.3.9.1 Lave cada pocillo 5 veces con 300 uL de tampón de lavado diluido utilizando la micropipeta multicanal.

#### 7.3.10 *Chlamydia trachomatis*:

7.3.10.1 Lave cada pocillo 3 veces con 300 uL de tampón de lavado diluido utilizando la micropipeta multicanal.

7.3.11 Descarte el volumen de forma vigorosa entre cada lavado y al final del proceso de lavado.

7.3.12 Golpee con fuerza los pocillos en una toalla de papel absorbente desechable para remover las gotas residuales.

7.3.13 Agregue 100 uL de conjugado a todos los pocillos excepto al A1 (Blanco de sustrato) utilizando la micropipeta de 20-200 uL.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 8 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

**7.3.14** Incube 30 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C) en oscuridad. Evite la luz solar directa.

**7.3.15 *Treponema pallidum*:**

**7.3.15.1** Lave cada pocillo 5 veces con 300 uL de tampón de lavado diluido cada pocillo utilizando la micropipeta multicanal.

**7.3.16 *Chlamydia trachomatis*:**

**7.3.16.1** Lave cada pocillo 3 veces con 300 uL de tampón de lavado diluido utilizando la micropipeta multicanal.

**7.3.17** Descarte el volumen de forma vigorosa entre cada lavado y al final del proceso de lavado.

**7.3.18** Descarte el líquido de los pocillos, golpee con fuerza los pocillos en una toalla de papel absorbente desechable para remover las gotas residuales.

**7.3.19** Agregue 100 uL de sustrato a todos los pocillos utilizando la micropipeta de 20-200 uL.

**7.3.20** Incube exactamente 15 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C) en oscuridad.

**7.3.21** Agregue 100 uL de solución de parada a todos los pocillos utilizando la micropipeta de 20-200 uL y mida los valores de absorbancia en el lector de placas a 450/620 nm en un plazo máximo de 30 minutos.

**7.4 Lectura de las placas.**

**7.4.1** Encienda el lector de placas presionando el botón de encendido en la parte posterior del equipo, seleccione en la pantalla táctil del lector "Test" y espere que la lámpara este estable.

**7.4.2** Seleccione "OK".

**7.4.3** Seleccione "New", enseguida "Sifilis IgM, IgG" para *Treponema pallidum* o "IgG Ct" para *Chlamydia trachomatis* y presione "OK".

**7.4.4** En la pantalla táctil seleccione para la posición A1 "BK" para el blanco de sustrato, para las posiciones del control negativo seleccione "NC" y seleccione "Sample" en las demás posiciones que utilice.



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 9 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

**7.4.5** Presiones "Start".

**7.4.6** Anote en el esquema de montaje los valores de absorbancia obtenidos.

**7.4.7** Apague el lector de placas presionando en la pantalla táctil los comandos en el siguiente orden "Exit", "Cancel", "Power off", "Yes".

**7.4.8** Apague el lector de placas presionando el botón de apagado en la parte posterior del equipo.

**7.4.9** Guarde los reactivos en refrigeración a 4 °C.

**7.4.10** Descarte la microplaca y los tubos de plástico tipo eppendorf en basurero para descarte de material biopeligroso punzocortante.

**7.4.11** Revise que los criterios de aceptación sean válidos completando las hojas de cálculo correspondiente a cada prueba (P-DCF-ECT-BQM-54-R01 o P-DCF-ECT-BQM-54-R02).

**7.4.12** Reporte los resultados en el SADCF.

## **7.5 Interpretación de los resultados**

**7.5.1** Multiplique el valor de absorbancia de la muestra por 10 y divida entre el valor de absorbancia promedio del control cut-off.

**7.5.2** Si el valor obtenido es mayor a 11, el resultado de la prueba es positivo.

**7.5.3** Si el valor obtenido está entre 9-11 (resultado dudoso), se recomienda repetir la prueba con una muestra fresca en 2 a 4 semanas. Si el resultado se mantiene en la zona de resultado dudoso, la muestra se considera negativa.

**7.5.4** Si el valor obtenido es menor a 9, el resultado de la prueba es negativo.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 10 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

## 8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

### 8.1 *Treponema pallidum*:

No.	Criterio de Aceptación	Valor Límite	Corrección Aplicable
1	Blanco	Menor a 0,100	Repetir el ensayo.
2	Valor de absorbancia del control negativo	Menor a 0,200	Repetir el ensayo.
3	Valor de absorbancia promedio del control cut-off	Entre 0,350-0,850	Repetir el ensayo.
4	Valor de absorbancia del control positivo	Entre 0,650-3,000	Repetir el ensayo.

### 8.2 *Chlamydia trachomatis*:

No.	Criterio de Aceptación	Valor Límite	Corrección Aplicable
1	Blanco	Menor a 0,100	Repetir el ensayo.
2	Valor de absorbancia promedio del control negativo	Menor a 0,200 y menor al control cut-off	Repetir el ensayo.
3	Valor de absorbancia promedio del control cut-off	Entre 0,150-1,300	Repetir el ensayo.
4	Valor de absorbancia promedio del control positivo	Mayor al control cut-off	Repetir el ensayo.

## 9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

N/A

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 01	PAGINA: 11 de 11
<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-CUERPOS TIPO IgG/IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM Y ANTICUERPOS TIPO IgG ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS MEDIANTE ELISA</b>	<b>P-DCF-ECT-BQM-54</b>	

## 10 Reporte de Análisis y Resultados:

**10.1** Proceda a reportar los datos obtenidos en el SADCF.

### Acciones Correctivas:

Si no se cumplen los criterios de aceptación el ensayo se debe repetir.

## 11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

Recuerde colocarse la gabacha y los guantes antes de manipular las muestras.

Debe asegurarse de limpiar el área de trabajo con alcohol de 70%, antes y después de realizar las pruebas.

Ante una eventual contaminación con la muestra analizada lave la zona afectada con abundante agua y jabón, posteriormente aplique alcohol al 70%. Informe inmediatamente a la Jefatura de Sección lo ocurrido.

## 12 Simbología:

ELISA: "Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay"

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: Inmunoglobulina M

PON: Procedimiento de Operación Normado

SADCF: Sistema automatizado del Departamento de Ciencias Forenses

## 13 Terminología:

N/A

## 14 Anexos

N/A