

CHLAMYDIA TRACHOMATIS CARD PLUS

Per uso diagnostico in Vitro

Test immunocromatografico rapido per la ricerca qualitativa della Chlamydia trachomatis

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

Il test Chlamydia Trachomatis card, per uso diagnostico in vitro, è un test rapido per la determinazione qualitativa della Chlamydia trachomatis direttamente in tamponi endocervicali femminili, in tamponi uretrali maschili e in campioni di urina maschili di soggetti sintomatici. Il test è di aiuto nella diagnosi di infezioni da Chlamydia.

La famiglia delle Clamidio è composta da tre specie: C. trachomatis, C. pneumoniae e C. psittaci. La Chlamydia trachomatis, patogeno per l'uomo, è suddivisa in 15 sierotipi conosciuti; 3 sono associati al Linfogranuloma venereo, i 12 rimanenti a infezioni genito urinarie. Nelle donne le complicanze dovute all'infezione da Chlamydia includono cervicite, uretrite, endometrite, malattia pelvica infiammatoria e aumento dell'incidenza di gravidanze ectopiche e di infertilità; negli uomini uretrite ed epididimite. L'infezione da Chlamydia Trachomatis ha un'alta prevalenza e una modalità di trasmissione asintomatica. Circa il 70% delle donne con infezioni endocervicali e il 50% degli uomini con infezioni uretrali non presentano sintomi.

La Chlamydia psittaci, principalmente un patogeno per gli animali, è associata a malattie respiratorie causate dall'esposizione dell'uomo con uccelli infetti, ma non vi è trasmissione uomo-uomo.

La Chlamydia pneumoniae, isolata per la prima volta nel 1983, è un patogeno per l'uomo ed è associata ad infezioni respiratorie e a polmonite.

Generalmente l'infezione da Chlamydia viene diagnosticata determinando le inclusioni della Chlamydia nei tessuti cellulari. Nonostante questo metodo sia più sensibile e specifico di altri è però molto costoso, richiede tempo (48-72ore) e molto impegno e, in molte strutture non può essere utilizzato come metodo di routine. L'immunofluorescenza richiede strumentazione dedicata e personale qualificato per l'interpretazione dei risultati. Il test Chlamydia Trachomatis card, sfruttando la reazione antigene-anticorpo su membrana, risulta un test semplice, rapido, specifico e altamente sensibile per la determinazione degli antigeni di Chlamydia.

II. PRINCIPIO

Chlamydia trachomatis test è un test rapido qualitativo basato sul principio immunocromatografico. Chlamydia trachomatis test rileva l'antigene di Chlamydia LPS, un lipopolissacaride genere-specifico. La membrana è trattata nella zona della banda test con un anticorpo monoclonale anti-genere specifico per LPS e un anticorpo anti-topo nella regione della banda di controllo. Durante il test, il campione reagisce con le particelle di oro, precedentemente trattate con anticorpi anti-Chlamydia, e migra lungo la membrana per capillarità. Se il campione contiene antigeni LPS, si forma una banda colorata con il complesso oro colloidale-anticorpo Chlamydia nella regione della banda test (T). Se il campione non contiene antigeni Chlamydia, si forma solo una banda rosa nella regione della banda di controllo (C), a dimostrazione del buon funzionamento del kit.

III. COMPONENTI DEI KIT CHLAMYDIA TRACHOMATIS CARD

Ogni kit contiene:

- | | |
|---|------------|
| 1. Chlamydia trachomatis TEST CARD | 20 pezzi |
| 2. EXTR. SOL. A in flacone di plastica con contagocce contenente 0,2 M Sodio Idrossido | 1 x 7,5 ml |
| 3. EXTR. SOL. B in flacone di plastica con contagocce contenente 0,2 M Ac.Cloridrico | 1 x 7,5 ml |
| 4. Provetta d'estrazione con tappi-filtro | 20 pezzi |
| 5. Tampone Swab Sterile | 20 pezzi |
| 6. Istruzioni per l'uso | 1 pezzo |
| 7. Materiali di controllo: Controllo Positivo (1 x 0,5 mL): N.1 vial con gocciolatore contenente componenti non-infettivi e NaN ₃ come conservante. Controllo Negativo: usare Soluzione d'estrazione A / Soluzione d'estrazione B. | |

IV. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

1. Tutti i componenti del kit devono essere conservati a temperatura ambiente (4-30°C).
2. Non congelare i componenti del kit.
3. Chlamydia trachomatis test è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

V. PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico in vitro e per uso professionale.
- Non usare i reattivi oltre la data di scadenza. Non mescolare reagenti provenienti da kit di diverso lotto. Non scambiare i tappi dei flaconi.
- Durante la manipolazione dei campioni indossare abiti protettivi da laboratorio e guanti monouso. Manipolare tutti i campioni come se contenessero reagenti infetti. Dopo l'analisi, smaltire con cura i tamponi dopo averli autoclavati per almeno 20 minuti a 121°C. In alternativa, i campioni possono essere trattati con lo 0,5-1% di soluzione di ipoclorito di sodio per un'ora prima dello smaltimento.
- La soluzione di estrazione A contiene Sodio idrossido (soluzione basica), la soluzione di estrazione B contiene Acido Cloridrico (soluzione acida). Se vengono in contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua corrente.
- Usare tamponi Swab sterili o spazzolini per citologia per prelevare i campioni endocervicali.
- Non mangiare, bere o fumare mentre si maneggiano i campioni e i reagenti. Durante la manipolazione dei campioni indossare abiti protettivi da laboratorio e guanti monouso.
- Come per tutti i test diagnostici, la diagnosi clinica definitiva non può essere effettuata sulla base di un unico test, ma deve essere fatta da un medico dopo aver valutato tutti i risultati clinici e di laboratorio.
- La soluzione di estrazione contiene sodio azide che potrebbe reagire con il piombo o il rame delle tubature di scarico formando delle metallo-azidi potenzialmente esplosive. Quando vengono eliminati dei campioni estratti o delle quantità di soluzione di estrazione, far scorrere abbondante acqua corrente per evitarne la formazione.
- Non seguire la procedura operativa, abbreviare la metodica analitica o incorretta interpretazione dei risultati può portare a una errata decisione nella gestione del paziente e ad una risposta sanitaria inappropriata. Nel contesto della gestione individuale del paziente un falso negativo potrebbe causare un ritardo nella (o mancata) diagnosi definitiva e misure idonee di trattamento e di controllo della infezione e prevenzione. L'infezione da Chlamydia non trattata può persistere con conseguente sviluppo del PID, che può portare alla sterilità. Nelle donne in gravidanza l'infezione non trattata può causare una congiuntivite e polmonite nel bambino. La congiuntivite può portare alla cecità nel neonato. Un falso positivo potrebbe portare a trattamenti non necessari od inappropriati, controlli inutili e azione di prevenzione non necessarie. Nel peggiore dei casi, la conseguenza di infezione da Chlamydia non trattata può provocare danni permanenti



VI. RACCOLTA DEL CAMPIONE E PREPARAZIONE

Per una migliore prestazione del test per la ricerca di Chlamydia trachomatis, è indispensabile effettuare un prelievo accurato.

A) Campioni femminili endocervicali:

1. Prima della raccolta del campione, con un tampone diverso o con del cotone, rimuovere l'eccesso di muco dall'endocervice e poi smaltire. **Attenzione: la mancata rimozione del muco può causare risultati falsamente positivi.**
2. Utilizzare il tampone fornito nel kit. In alternativa può essere utilizzato un tampone con la punta in rayon, dacron o cotone. Inserire il tampone all'interno del canale endocervicale oltrepassando la giunzione squamo colonnare, fino a quando la punta del tampone stesso non sarà più visibile. Ciò permette di prelevare cellule epiteliali cuboidali o colonnari, ricche di Chlamydia, in caso di infezione. Ruotare il tampone per 15-20 secondi ed estrarlo evitando di toccare la parete vaginale.
3. In alternativa i campioni endocervicali possono essere prelevati con spazzolini per citologia (non forniti nel kit. Attenzione: non usare spazzolini per citologia in donne gravide). Inserire lo spazzolino nel canale endocervicale oltrepassando la giunzione squamo colonnare. Lasciare due o tre secondi, quindi ruotare lo spazzolino due volte ed estrarlo evitando di toccare la parete vaginale.
4. Porre il tampone nel tubo di estrazione se il test viene eseguito immediatamente.

B) Tamponi maschili uretrali:

1. Per i prelievi uretrali devono essere utilizzati tamponi standard filiformi con la punta in fibra (non forniti). Informare il paziente di non urinare per almeno un'ora prima del prelievo.
2. Inserire il tampone nell'uretra per 2-4 cm, ruotare per 3-5 secondi poi estrarlo.
3. Porre il tampone nel tubo di estrazione se il test viene eseguito immediatamente.

Non mettere il tampone in contenitori contenenti liquidi di trasporto, poichè tale liquido potrebbe interferire con l'analisi.

Se non è possibile eseguire il test immediatamente, è possibile introdurre il tampone in un tubo vuoto per conservarlo fino al momento del test. Il tampone può essere conservato per 4 ore a temperatura ambiente (10-30°C) o 24 ore se refrigerato (4-8°C). Non congelare i campioni. Tutti i tamponi devono raggiungere la temperatura ambiente prima di essere analizzati.

C) Urine maschili:

1. Raccogliere 15-30 mL delle prime urine del mattino in un contenitore pulito e asciutto.
2. Miscelare gentilmente il campione di urina e trasferirne 10 mL in un tubo da centrifuga, aggiungere 10 mL di acqua distillata e centrifugare per 15-20 minuti a 3000 rpm. Eliminare il surnatante in modo accurato. Ruotare il tubo da centrifuga e asciugare con della carta eventuali residui di liquido presenti.
3. Se necessario centrifugare il precipitato nuovamente con acqua distillata, eliminare il surnatante ed usare il precipitato per il test.
4. Se non fosse possibile effettuare il test immediatamente, i campioni di urina possono essere refrigerati al massimo per 24 ore a 2-8°C.

VII. PROCEDURA DEL TEST

Leggere bene le istruzioni per l'uso. Aprire le buste solo poco prima di effettuare il test. Assicurarsi che tutti i reagenti, le card e i tamponi siano a temperatura ambiente prima di effettuare il test. Evitare contaminazioni, non porre i tappi dei reagenti in contatto con i tamponi o con tubi di estrazione sporchi.

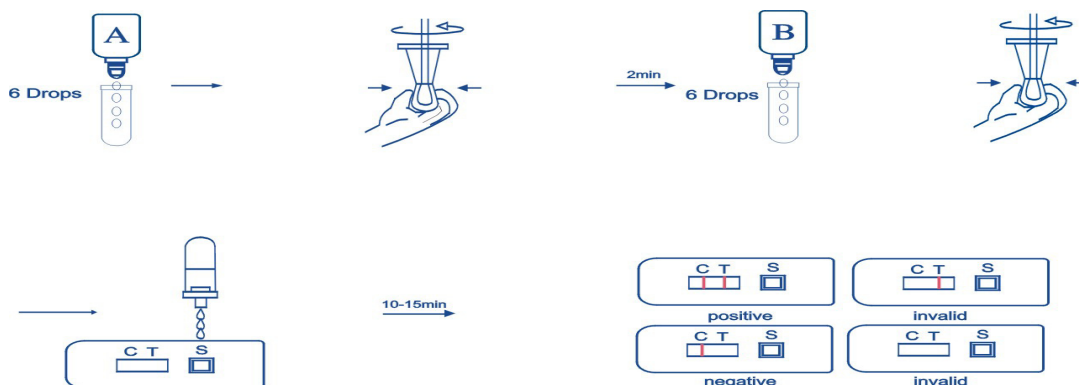
A) ESTRAZIONE DEL CAMPIONE:

Preparazione di tamponi endocervicali e/o uretrali o del sedimento di urina

- **Tamponi:** Dispensare in un tubo di estrazione pulito 6 gocce di soluzione di estrazione A ed immergere il tampone nel tubo di estrazione ed estrarre per 2 minuti a temperatura ambiente. Durante l'estrazione ruotare contro le pareti del tubo in modo che il liquido possa continuamente essere assorbito e rilasciato dal tampone.
- Quindi aggiungere 6 gocce di soluzione B. Premere il tampone contro le pareti del tubo per avere più liquido possibile. Eliminare il tampone seguendo le istruzioni di smaltimento dei rifiuti potenzialmente infettivi.
- **Sedimento:** riprendere il sedimento con 6 gocce di soluzione di estrazione A e miscelare. Trasferire la soluzione in un tubo di estrazione. Aggiungere 6 gocce di soluzione di estrazione B.
- La soluzione estratta può rimanere a temperatura ambiente per 60 minuti senza influenzare il risultato del test.

B) PROCEDURA DEL TEST

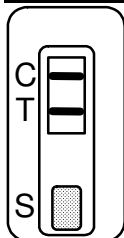
- Seguire le istruzioni per la raccolta e l'estrazione dei campioni.
- Togliere una card dal suo involucro protettivo e metterla su una superficie orizzontale, pulita e asciutta. Identificare la card con il nome del paziente o con il numero di controllo.
- Mettere il tappo filtrante (fornito) sul tubo d'estrazione e dispensare 3 gocce (circa 150 µl) di estratto nella finestrella campione.
- Attendere che la goccia sia assorbita prima di aggiungere la successiva ed evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto.
- Attendere la comparsa della banda test (S). I risultati dovrebbero essere letti entro 10 minuti dopo l'aggiunta del campione estratto. In funzione della concentrazione di antigeni di Chlamydia nel tampone la banda della positività potrebbe comparire anche solo dopo un minuto. Tuttavia per confermare un risultato negativo attendere i 15 minuti richiesti dalla reazione. **Non interpretare oltre il 15° minuto.**



Controllo Positivo aggiungere 3 gocce nella finestrella campione della card (S).
I risultati dovrebbero essere letti entro 10 minuti dopo l'aggiunta del controllo.

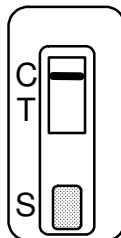
Controllo Negativo aggiungere nella provetta 3 gocce di **Soluzione d'estrazione A** e 3 gocce di **Soluzione d'estrazione B**, versare nella finestrella campione della card. **I risultati dovrebbero essere letti entro 10 minuti dopo l'aggiunta del controllo.**

VIII. LETTURA DEI RISULTATI



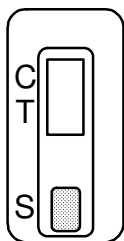
Positivo

Si formano due bande colorate nella finestra di lettura. La banda test (T) è la banda della positività; la banda di controllo (C) è usata come indicatore della buona riuscita del test. **L'intensità di colore della banda test può essere più debole o più intensa rispetto alla banda di controllo.**



Negativo

Appare solo la banda di controllo (C) nella finestra di lettura.



Non valido

Non appare la banda del controllo. In questo caso il test non è affidabile anche se compare la sola banda test. Il test non è valido e deve essere ripetuto.

IX. CARATTERISTICHE FUNZIONALI

A) Accuratezza

È stato condotto uno studio su 172 campioni clinici (provenienti da 3 cliniche diverse, includono campioni genitali maschili e femminili e urine maschili) utilizzando Chlamydia trachomatis test, e un test presente in commercio Clearview Chlamydia MF (Golden standard). I risultati letti tra 10 e 15 minuti.

		Clearview Chlamydia MF		Totale
		+	-	
Chlamydia trachomatis test	+	74	3	77
	-	2	93	95
Totale		76	96	172

Sensibilità relativa: 97.37% , Specificità relativa: 96.88%, Accuratezza 97.1%

B) Specificità

Gli anticorpi utilizzati nel test Chlamydia Trachomatis sono stati testati con 15 sierotipi di Chlamydia. Sono state testate anche Chlamydia pneumonia e Chlamydia psittaci dando risultati positivi.

Viceversa, nessuna cross-reattività è stata osservata con la maggior parte dei microrganismi che potrebbe essere riscontrata nei campioni vaginali. I microrganismi presenti nella seguente lista non reagiscono con Chlamydia trachomatis test a concentrazione pari a 10⁶CFU/ml.

Acinetobacter	Candida albicans
Salmonella typhi	Escherichia coli
Stafilococco aureo	Streptococco faecalis
Neisseria gonorrhoeae	Streptococco faecium
Pseudomonas	Trichomonas vaginalis
Emoglobina	Spermicidi
Lubrificanti ginecologici	Talco in polvere

C) Sensibilità

È stato condotto uno studio per verificare la sensibilità analitica del test Chlamydia Trachomatis. Sono state testate delle soluzioni a diverse concentrazioni note e con diversi sierotipi (da 0 a 15000 IFU/ml). I risultati indicano che la sensibilità del Chlamydia Trachomatis test con campioni vaginali, uretrali e urine maschili è pari a 4000 IFU/ml, come per il test in commercio Clearview Chlamydia MF.

X. CONTROLLO QUALITÀ

In ogni card è inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. La formazione della banda di controllo "C" conferma che la tecnica procedurale è corretta e che il volume del campione è sufficiente. È buona regola includere nelle sedute giornaliere dei controlli in commercio a diverse concentrazioni: uno positivo e uno negativo. Mascia Brunelli dispone del Codice UD80350 per l'uso appena descritto.

XI. LIMITAZIONI













- Chlamydia trachomatis test è destinato unicamente per un uso diagnostico in vitro. Il test deve essere utilizzato unicamente per la ricerca dell'antigene di Chlamydia trachomatis e per i campioni prelevati dall'endocervice o in ambiente uretrale o per urine maschili.
- Campioni con un'eccessiva presenza di muco o di sangue potrebbero generare risultati falsamente positivi.
- Come in tutti i test immunologici per la ricerca di Chlamydia trachomatis, Chlamydia trachomatis test non effettua distinzione tra microrganismi biologicamente attivi e non attivi.



4. il test non differenzia tra C.Trachomatis, C.Pneumonia e C.Psittaci. La determinazione della Chlamydia dipende dal numero di organismi presenti nel campione. Tale numero può essere influenzato dalla tipologia e dalla qualità del prelievo, così come dall'età, dalla storia del paziente riguardo malattie sessualmente trasmissibili, ecc.
5. Il test fornisce indicazioni solamente sulla presenza o assenza dell'antigene di Chlamydia trachomatis nei campioni e non dovrebbe essere utilizzato come unico elemento per formulare una diagnosi d'infezione da Chlamydia.
6. Se i sintomi clinici persistono e il risultato del test è negativo, procedere con ulteriori test analitici, come per esempio la coltura cellulare.
7. Come per tutte le procedure diagnostiche, non affidarsi unicamente al risultato di un singolo test, ma ad una sinossi dei risultati di laboratorio, a investigazioni cliniche e all'anamnesi del paziente.

XII. BIBLIOGRAFIA

1. Sanders J.W.et al Evaluation of an Enzyme Immunoassay for Detection of Chlamydia trachomatis in Urine of Asymptomatic Men.J.Clinical Microbiology,32,24-27,(1994).
2. Jaschek,G.et al Direct Detection of Chlamydia trachomatis in Urine Specimens from symptomatic and asymptomatic Men by Using a Rapid Polymerase Chain Reaction Assay.J.Clinical Microbiology,31,1209-1212,(1993).
3. Schachter, J Sexually transmitted Chlamydia trachomatis infection. Postgraduate medicine,72,60-69,(1982).
4. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections-2008 (W.H.O.)
5. Draft guidance for industry-Devices for Chlamydia (FDA may 2011)
6. Chlamydia (Istituto superiore di sanità-Italian MOH)-italian language
7. Infection by Chlamydia trachomatis (Società interdisciplinare per lo studio delle malattie sessualmente trasmesse)
8. Chlamydiacea (Università degli studi di Perugia-Dipartimento di Medicina e chirurgia Anni 2011-2012)

 IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device		Temperature limitation	 LOT	Batch code (Axxx)		Manufacturer
	Consult Instructions for use		Use by (year/month)	 REF	Catalogue number		Do not reuse
	Keep dry		Non-sterile		Fragile, handle with care		Keep away from heat

CONFEZIONE


1. Chlamydia trachomatis TEST CARD
2. EXTR. SOL. A in flacone di plastica con contagocce contenente 0,2 M Sodio Idrossido
3. EXTR. SOL. B in flacone di plastica con contagocce contenente 0,2 M Ac.Cloridrico
4. Provetta d'estrazione con tappi-filtro
5. Tampone Swab Sterile
6. Controllo Positivo con gocciolatore contenente componenti non-infettivi
7. Istruzioni per l'uso

Cod. VQ81406P (20 test)

20 pezzi
1 x 7,5 ml
1 x 7,5 ml
20 pezzi
20 pezzi
1 x 0,5 mL
1 pezzo

Codice Ramo CND W0105090101

N. Repertorio 1424287

 **0483** 