



Chlamydia Trachomatis

Για επαγγελματική in vitro διαγνωστική χρήση μόνο

Ταχεία δοκιμασία ποιοτικής ανίχνευσης του αντιγόνου Chlamydia trachomatis

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ- ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η δοκιμασία *Chlamydia trachomatis* προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση αναφορικά με την ταχεία ποιοτική ανίχνευση *Chlamydia trachomatis* απευθείας σε δείγματα ενδοτραχηλικών κυττάρων θήλεως, κύτταρα ουρήθρας ή και δείγματα ούρων άρρενος καθώς και δείγματα από την οφθαλμική περιοχή από ασθενείς με συμπτώματα. Η δοκιμασία προορίζεται για χρήση ως βοήθημα στη διάγνωση των λοιμώξεων από χλαμύδια.

Το γένος *Chlamydia* αποτελείται από τρία είδη: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, που προσβάλλουν τον άνθρωπο, και *Chlamydia psittaci*, που προσβάλλει ζώα. Το *Chlamydia trachomatis* έχει 15 γνωστούς ορότυπους. Αυτοί σχετίζονται με λοιμώξεις του ουρογεννητικού συστήματος και αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα (LGV). Το *Chlamydia trachomatis* είναι υπεύθυνο για τα πιο κοινά σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα. Στις ΗΠΑ εμφανίζονται περίπου 4 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις κάθε χρόνο, κυρίως τραχηλίτιδα και μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα. Αυτός ο μικροοργανισμός προκαλεί επίσης επιπεφυκίτιδα και πνευμονία σε παιδιά. Οι λοιμώξεις από *Chlamydia trachomatis* έχουν τόσο υψηλό επιπολασμό και όσο ασυμπτωματική μεταφορά, με συχνά σοβαρές επιπλοκές σε γυναίκες και νεογνά. Οι επιπλοκές των λοιμώξεων από χλαμύδια στις γυναίκες περιλαμβάνουν τραχηλίτιδα, ουρηθρίτιδα, ενδομητρίτιδα, φλεγμονώδη νόσο της πυέλου καθώς και αυξημένη συχνότητα εμφάνισης έκτοπης κύησης και της στειρότητας. Μετάδοση από τη μητέρα στο νεογνό κατά τον τοκετό μπορεί να οδηγήσει σε επιπεφυκίτιδα και πνευμονία. Στους άνδρες, τουλάχιστον το 40% όλων των περιπτώσεων της μη γονοκοκκικής ουρηθρίτιδας σχετίζονται με λοιμώξεις από χλαμύδια και επιδιουμίτιδα. Περίπου το 70% των γυναικών με ενδοτραχηλικές λοιμώξεις και έως 50% των ανδρών με λοιμώξεις ουρήθρας είναι συμπτωματικοί. Το *Chlamydia psittaci* προκαλεί λοιμώξεις που σχετίζονται με ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος σε άτομα που έχουν εκτεθεί σε μολυσμένα πτηνά, χωρίς όμως να μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο. Το *Chlamydia pneumoniae*, το οποίο απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1983, συνδέεται με λοιμώξεις του αναπνευστικού και πνευμονία.

Παραδοσιακά, λοιμώξεις από χλαμύδια ανιχνεύονται σε κύτταρα καλλιέργειας ιστού ή μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). Συνδυασμός PCR και καλλιέργειας δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα, ωστόσο απαιτείται κόπος, χρόνος (2-3 ημέρες), και κατάλληλη υλικοτεχνική υποδομή, ενώ οι άμεσες εξετάσεις όπως δοκιμασία ανοσοφθορισμού (IFA) απαιτούν ακόμα πιο ειδικό εξοπλισμό και έμπειρο χειριστή που θα ερμηνεύσει τα αποτελέσματα.

II. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η *Chlamydia trachomatis* είναι μια ταχεία ποιοτική ανοσοδοκιμασία που τύπου sandwich κολλοειδούς χρυσού για την ανίχνευση του αντιγόνου *Chlamydia trachomatis*. Η μέθοδος χρησιμοποιεί μια μεμβράνη επικαλυμμένη με μονοκλωνικά αντισώματα προκειμένου να ανιχνεύσει το αντιγόνο του *Chlamydia trachomatis* επιλεκτικά και με μεγάλο βαθμό ευαισθησίας. Κατά την εκκίνηση της εξέτασης το δείγμα αναμινύεται με το σύμπλοκο του χρωμοφόρου και αρχίζει να μετακινείται διαμέσου της μεμβράνης. Αν το δείγμα περιέχει χλαμύδια θα αλληλεπιδράσει με το προ-κεκαλυμμένο σύμπλοκο του χρωμοφόρου και μια έγχρωμη γραμμή θα εμφανιστεί στη Ζώνη Εξέτασης (Τ). Αρνητικά και θετικά δείγματα θα πρέπει να δημιουργήσουν μια έγχρωμη γραμμή στη Ζώνη Ελέγχου (C), γεγονός που ενδεικνύει σωστή εκτέλεση της τεχνικής, όγκο δείγματος, και λειτουργία της εξέτασης.

III. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κάθε σετ περιέχει:

1. *Chlamydia trachomatis* κασέτα - x20
2. Διάλυμα απομόνωσης Α σε πλαστικές φιάλες περιέχον 0,2 M NaOH (1 x 7,5 ml)
3. Διάλυμα απομόνωσης Β σε πλαστικές φιάλες περιέχον 0,2 M HCl (1 x 7,5 ml)
4. Δοκιμαστικά σωληνάρια απομόνωσης με πάμα - x20
5. Στείρα επιχρίσματα (x20 μπατονέτες)
6. Φύλλο οδηγιών x1

Βοηθητικά αντιδραστήρια (δεν παρέχονται με αυτό το kit): Θετικός μάρτυρας (Mascia Brunelli κωδ. UD80350): Ένα διάλυμα από μια μη λοιμογόνο, απομονωμένη καλλιέργεια in-vitro με 0.05% αζίδιο του νατρίου διατίθεται προαιρετικά ως θετικός έλεγχος (1x 0,5 ml). Το διάλυμα αυτό παράγει ένα αποτέλεσμα δοκιμασίας ισοδύναμο με αυτό που παράγεται από οριακά θετικά δείγματα (δηλαδή ανοικτό ροζ χρώμα) και θα πρέπει να διατηρείται στους +2 ° C έως +8 ° C.

IV. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Το kit της δοκιμασίας (κασέτες εξέτασης και διαλύματα) πρέπει να αποθηκεύονται σε συντήρηση ψυγείου σε (2-8°C) ή σε θερμοκρασία δωματίου (μέχρι 30°C). Η κασέτα της εξέτασης πρέπει να παραμένει στη σφραγισμένη θήκη μέχρι να χρησιμοποιηθεί επειδή είναι ευαίσθητη στην υγρασία. ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ. Μην χρησιμοποιείτε την εξέταση μετά την ημερομηνία λήξης.

V. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Για in vitro διαγνωστική χρήση μόνο.
- Μην χρησιμοποιείτε την εξέταση μετά την ημερομηνία λήξης. Μην τρώτε, πίνετε ή καπνίζετε στην περιοχή όπου χειρίζεστε τα δείγματα ή τις συσκευές.
- Όλα τα δείγματα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσματικά.
- Εφαρμόστε τις καθιερωμένες προφυλάξεις ενάντια σε μικροβιολογικούς κινδύνους σε όλη τη διάρκεια της εξέτασης και ακολουθήστε τις τυποποιημένες διαδικασίες για την κατάλληλη απόρριψη των δειγμάτων.
- Φορέστε προστατευτικό ιματισμό ένδυσης όπως εργαστηριακές ποδιές, γάντια μιας χρήσης και προστασία ματιών όταν αναλύονται τα δείγματα
- Υπερβολική υγρασία ή θερμότητα μπορεί να επηρεάσει ανεπανόρθωτα τα αποτελέσματα.
- Τα Αντιδραστήρια Α&Β είναι τοξικά μετά από τυχόν κατάποση. Κρατείστε το μακριά από παιδιά. Στην περίπτωση κατάποσης αναζητήστε άμεσα ιατρική βοήθεια. Ξεπλύνετε με άφθονο νερό στην περίπτωση επαφής με το δέρμα ή τους οφθαλμούς.
- Μην αγγίζετε το παράθυρο αποτελέσματος της κασέτας ώστε να αποφύγετε τις επιμολύνσεις.

VI. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ, ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Η ποιότητα του δείγματος που λαμβάνεται είναι υψίστης σημασίας.

1) Κολπικά δείγματα:

- Χρησιμοποιώντας την μπατονέτα που περιέχει το kit συλλέξτε δείγμα φροντίζοντας ωστόσο να απομακρύνετε και να απορρίψετε την περίσσεια βλάννας από την ενδοκολπική περιοχή (π.χ. με ξεχωριστή μπατονέτα ή ένα κομμάτι βαμβάκι). Το βύσμα της μπατονέτας πρέπει να εισάγεται στον τράχηλο της μήτρας, μετά τη διασταύρωση του πλακώδους επιθηλίου, έως ότου το μεγαλύτερο μέρος της μπατονέτας να μην είναι πλέον ορατό. Αυτό θα επιτρέψει λήψη των διαφόρων επιθηλίων τα οποία αποτελούν την κύρια δεξαμενή του *Chlamydia*. Σταθερά περιστρέψτε το στυλεό για 15 έως 20 δευτερόλεπτα χωρίς να τον επιμολύνετε με κολπικά κύτταρα.



- Εναλλακτικά, ενδοτραχηλικά δείγματα μπορούν να συλλεχθούν με μια κυτταρολογική βούρτσα με τον ίδιο τρόπο (προσοχή: μην χρησιμοποιείτε βούρτσες σε έγκυες ασθενείς).

2) Δείγματα ουρήθρας: Χρησιμοποιείτε ειδικές για το σκοπό αυτό μπατονέτες. Οι ασθενείς θα πρέπει να μην έχουν ουρήσει για τουλάχιστο 1 ώρα πριν τη συλλογή του δείγματος. Τοποθετήστε το στυλό περίπου 2 έως 4 cm μέσα στην ουρήθρα, περιστρέψτε για 3 έως 5 δευτερόλεπτα και μετά αφαιρέστε τον. Πραγματοποιείτε τη δοκιμή άμεσα.

3) Ανδρικά ούρα: Ζητήστε από τον ασθενή να συλλέξει τουλάχιστον 15-30 ml φρέσκα ούρα σε αποστειρωμένο δοχείο), χωρίς κανένα συντηρητικό (δεν παρέχεται στο kit). Τα πρωινά δείγματα ούρων περιέχουν την υψηλότερη συγκέντρωση χλαμυδίων και ως εκ τούτου προτιμώνται ως υλικό δείγματος.

4) Αποθήκευση: Οι μπατονέτες με τα βιολογικά δείγματα μπορούν να παραμείνουν σε θερμοκρασία δωματίου για 4 ώρες ή ως και 24 ώρες στο ψυγείο. Μην ψύχετε. Τα δείγματα θα πρέπει να έχουν έλθει σε θερμοκρασία δωματίου προκειμένου να γίνει η εξέταση. Αν προτιμάτε να προχωρήσετε απευθείας σε αυτή, βάλτε τη μπατονέτα μέσα στο σωληνάριο απομόνωσης αμέσως μετά τη δειγματοληψία. Τα δείγματα θα πρέπει έρχονται σε θερμοκρασία δωματίου 10-30 ° C πριν από τη δοκιμή.

VII. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

A. Απομόνωση δείγματος:

1. Για να ετοιμάσετε ενδοτραχηλικά ή δείγματα ουρήθρας:

- Τοποθετήστε ένα καθαρό, σωληνάριο απομόνωσης στο στατώ. Προσθέστε 6 σταγόνες του διαλύματος απομόνωσης A στο σωληνάριο.
- Βυθίστε το επίχρισμα του ασθενούς στο σωληνάριο για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, συμπιέστε το στυλό με κυκλικές κινήσεις πάνω στο τοίχωμα του σωλήνα εξαγωγής, έτσι ώστε να διαλυτοποιηθεί η μέγιστη δυνατή ποσότητα μικροοργανισμών.
- Μετά προσθέστε 6 σταγόνες του διαλύματος απομόνωσης B.
- Το δείγμα μπορεί να παραμείνει στην κατάσταση αυτή για 1 ώρα μέχρι την εξέταση.

2. Για να ετοιμάσετε δείγματα ούρων ανδρός:

- Φυγοκεντρήστε τα ούρα (τουλάχιστον 10 ml) σε 3.000 rpm για 15-20 λεπτά.
- Αφαιρέστε το υπερκείμενο από το σωλήνα φυγοκέντρησης, στραγγίξτε προσεκτικά την περίσσεια, προσθέστε 6 σταγόνες διαλύματος εκχύλισης A στο ίζημα (που περιέχει τα μικρόβια) και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 2 λεπτά.
- Μεταφέρετε το αιώρημα του φυγοκεντρικού σωλήνα σε ένα δοκιμαστικό σωληνάριο και προσθέστε 6 σταγόνες διαλύματος B.
- Αναμίξτε το αιώρημα με μια πιπέτα επαναληφμένα. Το δείγμα μπορεί τώρα να τοποθετηθεί στην κασέτα δοκιμής.

B. Διαδικασία εξέτασης:

- Πριν την εξέταση, βεβαιωθείτε ότι η κασέτα εξέτασης έχει έλθει σε θερμοκρασία δωματίου. Η κασέτα εξέτασης θα πρέπει να αποσφραγίζεται μόνο λίγο πριν την εξέταση Αφαιρέστε τη συσκευή από την αλουμινένια συσκευασία. Ονομάστε τη συσκευή με το όνομα ασθενούς ή κωδικό αναγνώρισης.
- Τοποθετήστε την κασέτα σε μια καθαρή και επίπεδη επιφάνεια.
- Τοποθετήστε πώμα με σταγονόμετρο στην κορυφή του σωληναρίου απομόνωσης. Προσθέστε 3 πλήρεις σταγόνες διαλύματος (περίπου 150 µL) στο βοηθίο δείγματος (S) της συσκευής και αρχίστε την χρονομέτρηση
- Αναγνώστε το αποτέλεσμα μετά από 10 λεπτά. Τα ισχυρώς θετικά αποτελέσματα μπορούν να παρατηρηθούν πιο σύντομα. Μην ερμηνεύετε το αποτέλεσμα μετά από 15 λεπτά.

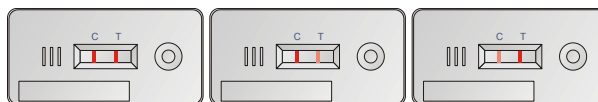


VIII. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Για την ερμηνεία του αποτελέσματος οι γραμμές που παρουσιάζονται στο παράθυρο αποτελέσματος πρέπει να ερμηνευθούν οπτικά.

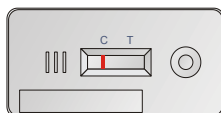
Θετικό αποτέλεσμα

Δύο ροζ έγχρωμες γραμμές εμφανίζονται στο παράθυρο αποτελέσματος του εξετάστη. Εκτός από την ροζ γραμμή ελέγχου στην C περιοχή, μια ευδιάκριτη ροζ γραμμή αποτελέσματος εμφανίζεται στην T-περιοχή. Οι εντάσεις χρώματος των γραμμών ποικίλλουν. Αυτό το αποτέλεσμα είναι θετικό για χλαμύδια.



Αρνητικό αποτέλεσμα

Μια μοναδική ροζ γραμμή παρουσιάζεται στην C-περιοχή του παραθύρου αποτελέσματος του εξετάστη. Καμία γραμμή δεν είναι ορατή στην T-περιοχή. Αυτό το αποτέλεσμα είναι αρνητικό για χλαμύδια.



Άκυρο αποτέλεσμα

Εάν καμία γραμμή ελέγχου δεν εμφανίζεται στην C -περιοχή η εξέταση δεν έχει λειτουργήσει και πρέπει να ερμηνευθεί ως άκυρη. Η απουσία γραμμών ελέγχου δείχνει λάθος στη διαδικασία εξέτασης ή ότι τα συστατικά της εξέτασης έχουν αλλοιωθεί. Παρακαλώ επαναλάβετε την εξέταση με μια νέα κασέτα δίνοντας πρόσθετη προσοχή στις οδηγίες. Εάν το πρόβλημα εμμένει ελάτε σε επαφή με την εταιρεία.





IX. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

A) Κλινική Ακρίβεια

1049 κλινικά δείγματα ανδρών και γυναικών από 3 διαφορετικές κλινικές συγκρίθηκαν με τη δοκιμασία Chlamydia trachomatis, μικροβιακή καλλιέργεια και PCR. Τα αποτελέσματα είχαν ως εξής:

Chlamydia trachomatis test	Μικροβιακή καλλιέργεια		Σύνολο
	(+)	(-)	
(+)	121	92	213
(-)	11	825	836
Σύνολο	132	917	1049

Σχετική Ευαισθησία: 91.7%

Σχετική Ειδικότητα: 90%

Ακρίβεια: 90.2%

Chlamydia trachomatis test	PCR		Σύνολο
	(+)	(-)	
(+)	141	72	213
(-)	11	825	836
Σύνολο	152	897	1049

Σχετική Ευαισθησία: 92.8%

Σχετική Ειδικότητα: 92%

Ακρίβεια: 92.1%

B) Ειδικότητα

Το αντίσωμα που χρησιμοποιεί η διαδικασία έχει δείχθει να ανιχνεύει 15 οροτύπους χλαμυδίων. Η δοκιμασία ανιχνεύει και Chlamydia pneumoniae, και Chlamydia psittaci. Αντίθετα, τα παρακάτω μικρόβια δεν επιμολύνουν τη δοκιμασία σε συγκεντρώσεις ως 10⁷CFU/ml:

Acinetobacter	Candida albicans
Salmonella typhi	Escherichia coli
Staphylococcus aureus	Streptococcus faecalis
Neisseria gonorrhoeae	Streptococcus faecium
Pseudomonas	Trichomonas vaginalis

X. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Μια εσωτερική διαδικασία ελέγχου έχει ενσωματωθεί στη δοκιμή προκειμένου να διασφαλιστεί η ορθή απόδοση και αξιοπιστία της δοκιμασίας. Η χρήση ενός εξωτερικού ελέγχου, συνιστάται να επαληθεύσει ορθή εκτέλεση της δοκιμασίας. Δείγματα ποιοτικού ελέγχου πρέπει να εξετάζονται ανάλογα με τις απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου που θεσπίστηκε από το εργαστήριο δοκιμών. Για το σκοπό αυτό συστήνουμε τα βοηθητικά αντιδραστήρια της Mascia Brunelli.

XI. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η δοκιμασία ανιχνεύει Chlamydia Trachomatis δεν μπορεί να διακρίνει μεταξύ C. trachomatis, C. pneumoniae ή C. psittaci. Η ανίχνευση των χλαμυδίων εξαρτάται από τη συγκέντρωση των μικροοργανισμών που υπάρχουν στο δείγμα. Αυτό μπορεί να επηρεαστεί αρνητικά από περίσσεια βλέννας, αίματος, αλλά και από μεθόδους συλλογής δείγματος και παράγοντες του ασθενούς, όπως η ηλικία, προηγούμενο ιστορικό σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων, παρουσία των συμπτωμάτων, κλπ.

XII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Grayston, J.T. et al., N. Engl. J. Med. 315:161, 1986.
- Barnes, R., Clin. Microbiol. Rev. 2:119, 1989.
- Kellogg, J.A., Arch. Pathol. Lab. Med. 113:453, 1989.
- Schachter, J., N., Engl. J. Med. 13:105, 1978.
- Schachter, J., Chlamydiae, p.1045ff, Manual of Clinical Microbiology, 5th ed, ASM, Washington, 1991.
- Schachter, J. & Dawson, C.R., Sex. Transm. Dis. 8:167, 1981.
- Stamm, W.E., Ann. Intern. Med. 108:710, 1988.
- CDC. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 34(suppl 3-s): 535, 1985.8

EDMA CODE 15 70 01 01 0483

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Authorized representative		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by
	Sample diluent		