new art laboratories

NADAL® Chlamydia Test (test cassette)

REF 212007

de	Gebrauchsanweisung	2	pt	Instruções de Utilização	32
en	Instruction for use	7	cs	Návod k použití	37
fr	Instructions d'utilisation	12		Symbols	43
es	Instrucciones de uso	17		Our Teams	44
it	Istruzioni per l'uso	22			
pl	Sposób użycia	27			

IVD CE 0197

Version 1.2, 2022-09-20

nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12
47445 Moers
Germany

Moers
Tel: +49 (2841) 99820-0
Fax: +49 (2841) 99820-1

Regensburg
Tel: +49 941 29010-0
Fax: +49 941 29010-50

www.nal-vonminden.com
info@nal-vonminden.com

Director:
Lukas Eder

Commercial reg. Kleve
HRB 5679
Steuer-Nr. 244/133/00130
UST-ID-Nr. DE 189 016 086

NADAL® Chlamydia Test (Ref. 212007)

1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Chlamydia Test (Abstrich/Urin) ist ein schneller visueller Immunoassay für den qualitativen Nachweis von *Chlamydia trachomatis* in Zervixabstrichen bei Frauen, sowie Harnröhrenabstrichen und Urinproben bei Männern. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose einer Chlamydien-Infektion bestimmt. Der NADAL® Chlamydia Test ist nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Zu den Gattungen der *Chlamydia* und *Chlamydophila* gehören u.a. drei Spezies: *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis)*, die kürzlich neu klassifizierte und in erster Linie mit dem Menschen assoziierte Art *Chlamydophila pneumoniae (C. pneumoniae*) sowie die vorwiegend mit Tieren assoziierte Art *Chlamydia psittaci (C. psittaci)*.

C. trachomatis umfasst 15 bekannte Serovare und steht im Zusammenhang mit Trachomen und urogenitalen Infektionen. 3 von 15 Serovaren werden mit Lymphogranuloma venereum (LGV) assoziiert. *C. trachomatis*-Infektionen gehören zu den häufigsten sexuell übertragbaren bakteriellen Krankheiten. *C. trachomatis*-Infektionen sind durch eine hohe Prävalenz und eine asymptomatische Übertragungsrate mit häufigen schweren Komplikationen bei Frauen und Neugeborenen gekennzeichnet. Zu den Komplikationen von *Chlamydia*-Infektionen bei Frauen gehören Zervizitis, Urethritis, Endometritis, Unterleibsentzündungen und ein erhöhtes Auftreten von ektopischen Schwangerschaften und Unfruchtbarkeit.

Eine vertikale Übertragung der Krankheit von der Mutter auf das Neugeborene bei der Geburt kann zu Einschlusskörperchenkonjunktivitis und Lungenentzündung führen. Bei Männern sind mindestens 40% aller Fälle nicht-gonorrhoischer Urethritis mit *Chlamydia*-Infektionen und Epididymitis assoziiert. Ungefähr 70% der Frauen mit endozervikalen Infektionen und bis zu 50% der Männer mit urethralen Infektionen sind symptomatisch.

C. psittaci-Infektionen stehen im Zusammenhang mit Atemwegserkrankungen bei Personen, die mit infizierten Vögeln in Kontakt waren, und werden nicht von Mensch zu Mensch übertragen.

C. pneumoniae, 1983 zum ersten Mal isoliert, steht im Zusammenhang mit Atemwegserkrankungen und Lungenentzündung.

Früher wurden *Chlamydia*-Infektionen anhand des Nachweises von *Chlamydia*-Einschlüssen in Gewebekulturzellen diagnostiziert. Die Kulturmethode ist die sensibelste und spezifischste Labormethode, ist jedoch arbeitsaufwändig, teuer, dauert lange (2-3 Tage) und steht in den meisten Institutionen nicht routinemäßig zur Verfügung. Direkte Tests wie Immunfluoreszenz-Assays (IFA) erfordern eine spezialisierte Ausrüstung und einen ausgebildeten Anwender, um die Ergebnisse auszuwerten. Heute erfolgt der Nachweis von *Chlamydia* meist über PCR.

3. Testprinzip

Der NADAL® Chlamydia Test (Abstrich/Urin) weist *Chlamydia trachomatis* durch visuelle Interpretation der Farbenwicklung auf dem internen Teststreifen nach. Monoklonale Antikörper gegen Antigen-spezifische Lipopolysaccharide (LPS) sind im Testlinienbereich der Membran immobilisiert. Während der Testung reagiert die Probe mit anderen monoklonalen anti-*Chlamydia*-LPS-Antikörpern, die an farbige Partikel konjugiert und auf dem Konjugat-Pad des Tests vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang und interagiert mit den Reagenzien auf der Membran. Wenn in der Probe genügend *Chlamydia*-Antigene vorhanden sind, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich der Membran. Die Anwesenheit dieser farbigen Linie deutet auf ein positives Ergebnis hin, während ihre Abwesenheit auf ein negatives Ergebnis hinweist.

Das Erscheinen der farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

Jeder Test besteht aus einem Reagenzstreifen, welcher in einem Plastikgehäuse eingebaut ist.

Die Menge von *C. trachomatis*-Antikörpern, die im Testlinienbereich vorbeschichtet sind, beträgt < 0,001 mg, die Menge von Streptavidin, das im Kontrolllinienbereich vorbeschichtet ist, beträgt ca. 0,0003 mg. Das Konjugat-Pad enthält 0,002 mg *C. trachomatis*-Antikörper, die an rote Latex-Partikel gekoppelt sind.

- 20 NADAL® Chlamydia Testkassetten
- Gemäß 93/42/EWG mitgeliefertes zusätzliches Material:
  20 sterile Zervixabstrichtupfer (für Frauen) CE2797

  Puritan Medical Products Company LLC
  31 School Street
  Guilford, Maine 04443-0149 USA (authorised EU representative EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)
- 20 Extraktionsröhrchen mit Tropfaufsätzen
- 1 Extraktionspuffer A “extraction buffer A” (10 ml) mit 0,2 M NaOH

  Achtung
  H315: Verursacht Hautreizungen
  H319 Verursacht schwere Augenreizung
- 1 Extraktionspuffer B “extraction buffer B“ (9 ml) mit 0,2 M HCl
- 1 Röhrchenhalter
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Für Urinproben bei Männern: Probensammelbehälter, Einwegpipetten, Zentrifuge
- Für urethrale Proben bei Männern: Spezielle Abstrichtupfer
- Für Abstrichproben bei Frauen: ggf. Tupfer oder Wattebällchen zur Entfernung überschüssigen Schleims
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Das Test-Kit sollte bei 2-30°C gelagert und bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie das Test-Kit nicht ein. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor

Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie den Test nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Tests oder Tupfer nicht verwenden, wenn die Verpackungen beschädigt sind.
- Tests und Extraktionsröhrchen nicht wiederverwenden, letzteres um Kreuzkontaminationen zwischen Proben zu vermeiden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits, z.B. Reagenzien, Tropfspitzen oder Verschlüsse der Fläschchen, austauschen oder mischen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Extraktionspuffer A “extraction buffer A” und Extraktionspuffer B “extraction buffer B“ sind leicht ätzend. Vermeiden Sie jeden Kontakt mit den Augen und den Schleimhäuten. Bei versehentlichem Kontakt mit viel Wasser sorgfältig waschen.
- Feuchtigkeit und extreme Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Wenn die Testdurchführung abgeschlossen ist, entsorgen Sie die Tupfer sorgfältig nach dem Autoklavieren von mindestens 20 Minuten bei 121°C. Alternativ können die Tupfer vor der Entsorgung mit 0,5% Natriumhypochlorit (d.h. Haushaltsbleiche) eine Stunde behandelt werden.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.
- Verwenden Sie keine Zytologie-Bürsten bei schwangeren Patientinnen.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Die Qualität der Proben ist äußerst wichtig. Der Nachweis von *Chlamydia* erfordert eine energische und sorgfältige Probenentnahme-Technik, die vor allem Zellmaterial und nicht nur Körperflüssigkeiten bereitstellt. Behandeln Sie die Abstrichtupfer vor der Probenentnahme **nicht** mit 0,9% Natriumchlorid.

Entnahme von Zervixabstrich-Proben bei Frauen:

- Verwenden Sie den im Test-Kit mitgelieferten Abstrichtupfer.
- Entfernen Sie vor der Probenentnahme mit einem separaten Tupfer oder einem Wattebällchen überschüssigen Schleim aus dem endozervikalen Bereich und entsorgen Sie den Tupfer bzw. das Wattebällchen.
- Der Abstrichtupfer sollte in den Endozervikalkanal an der squamocolumnaren Übergangszone vorbei eingeführt werden, bis die Spitze des Abstrichtupfers nicht mehr zu sehen ist. Dies ermöglicht die Gewinnung der kolumnaren oder kuboidalen Epithelzellen, in denen sich die *Chlamydia*-Bakterien hauptsächlich ansiedeln.
- Drehen Sie den Abstrichtupfer 15-20 Sekunden lang energisch und ziehen Sie den Tupfer wieder heraus. Vermeiden Sie dabei die Verunreinigung mit exozervikalen oder vaginalen Zellen.
- Wenn der Test unverzüglich durchgeführt werden soll, geben Sie den Tupfer in das Extraktionsröhrchen.

Entnahme von Harnröhrenabstrich-Proben bei Männern:

- Verwenden Sie für Harnröhrenabstrichentnahmen nur standardmäßige Faser-Tupfer mit Drahtschaft oder Zytologie-Bürsten (nicht mitgeliefert). Weisen Sie den Patienten an, dass er mindestens 1 Stunde vor der Probensammlung nicht urinieren sollte.
- Führen Sie den Abstrichtupfer ca. 2-4 cm in die Harnröhre ein, drehen Sie ihn 3-5 Sekunden lang und ziehen Sie ihn dann wieder heraus.
- Wenn der Test unverzüglich durchgeführt werden soll, geben Sie den Abstrichtupfer in das Extraktionsröhrchen.

Entnahme von Urinproben bei Männern:

- Sammeln Sie 15-30 mL sauberen ersten Morgenurin in einem sterilen Urinsammelbehälter. Proben des ersten Morgenurins werden bevorzugt, um die höchste Konzentration an *Chlamydia*-Antigenen zu erhalten.
- Mischen Sie den Urin durch Umdrehen des Behälters. Geben Sie 10 ml der Urinprobe in ein Zentrifugenröhrchen, fügen Sie 10 ml destilliertes Wasser hinzu und zentrifugieren Sie die Suspension bei 3.000 rpm für 15 Minuten.
- Drehen Sie das Röhrchen um und entfernen Sie den Überstand sorgfältig. Entfernen Sie jeglichen Überstand vom Rand des Röhrchens, indem Sie ihn mit saugfähigem Papier abtupfen.
- Falls der Test sofort durchgeführt werden soll, behandeln Sie das Urinpellet gemäß Punkt 9 „Testdurchführung“.

Geben Sie den Tupfer nicht in eine Transportvorrichtung mit Transportmedium. Das Transportmedium beeinträchtigt den Test. Die Lebensfähigkeit von Bakterien ist nicht für den Test erforderlich. Falls die unverzügliche Testung nicht möglich ist, sollten die Patientenproben für die Lagerung oder den

NADAL® Chlamydia Test (Ref. 212007)

Transport in ein trockenes Transportröhrchen gegeben werden. Die Abstrichtupfer können 4 Stunden bei Raumtemperatur (15-30°C) oder 24 Stunden gekühlt bei 2-8°C gelagert werden. Die Urinproben können 24 Stunden gekühlt (2-8°C) aufbewahrt werden. Frieren Sie Proben nicht ein. Alle Proben sollten vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C) gebracht werden.

9. Testdurchführung

Bringen Sie die Tests, Reagenzien, Proben und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

- Entnehmen Sie die NADAL® Chlamydia Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und verwenden Sie sie so bald wie möglich. Die besten Ergebnisse erzielen Sie, wenn der Test unverzüglich nach Öffnen des Folienbeutels durchgeführt wird.
- Extrahieren Sie *Chlamydia*-Antigene entsprechend der Probenart.

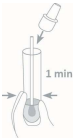
Für Zervixabstrich- oder Harnröhrenabstrich-Proben:

1. Platzieren Sie ein sauberes Extraktionsröhrchen in den Röhrchenhalter. Halten Sie das Fläschchen mit Extraktionspuffer A “extraction buffer A“ senkrecht und geben Sie 8 Tropfen in das Extraktionsröhrchen.

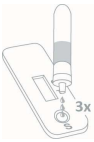
2. Geben Sie den Abstrichtupfer des Patienten ins Extraktionsröhrchen und warten Sie 2 Minuten. In der Zwischenzeit drehen Sie den Tupfer mit kreisförmigen Bewegungen und drücken Sie ihn gegen die Röhrchenwand, so dass so viel Flüssigkeit wie möglich aus dem Tupfer ausgedrückt und wieder absorbiert wird. Wiederholen sie diesen Vorgang mindestens 15x.

3. Halten Sie das Fläschchen mit Extraktionspuffer B “extraction buffer B“ senkrecht und geben Sie 8 Tropfen hinzu. Mischen Sie die Flüssigkeiten mit Hilfe des Tupfers. Drücken Sie den Tupfer für 1 Minute gegen die Röhrchenwand, so dass so viel Flüssigkeit wie möglich aus dem Tupfer ausgedrückt wird. Entsorgen Sie den Tupfer gemäß der Richtlinien für den Umgang mit Infektionserregern. Setzen Sie den Tropfaufsatz auf das Extraktionsröhrchen.

4. Die extrahierte Probe kann 60 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahrt werden, ohne dass das Testergebnis beeinträchtigt wird.



5. Geben Sie 3 Tropfen (ca. 100 µl) der extrahierten Probe aus dem Extraktionsröhrchen in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Starten Sie den Timer.



Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung (S) und geben Sie keine Lösung in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld).
Wenn der Test zu laufen beginnt, werden Sie beobachten wie eine farbige Flüssigkeit über die Membran wandert.

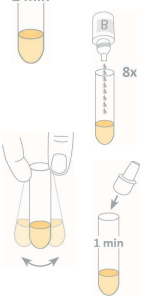
6. Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Ergebnis nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.

Für Urinproben bei Männern:

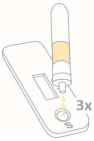
1. Halten Sie das Fläschchen mit Extraktionspuffer A “extraction buffer A“ senkrecht und geben 8 Tropfen zum Urinpellet im Zentrifugenröhrchen. Pipettieren Sie die Flüssigkeit auf und ab, und mischen Sie sie kräftig, bis die Suspension homogen ist.

2. Geben Sie die gesamte Lösung aus dem Zentrifugenröhrchen in ein Extraktionsröhrchen. Lassen Sie es 2 Minuten stehen.

3. Halten Sie das Fläschchen mit Extraktionspuffer B “extraction buffer B“ senkrecht und geben Sie 8 Tropfen in das Extraktionsröhrchen. Vortexen Sie es oder klopfen Sie gegen den Boden des Röhrchens, um die Lösung durchzumischen. Lassen Sie es 1 Minute stehen.



4. Setzen Sie den Tropfaufsatz auf das Extraktionsröhrchen. Geben Sie 3 Tropfen (ca. 100 µl) der extrahierten Probe aus dem Extraktionsröhrchen in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Starten Sie den Timer.



Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung (S) und geben Sie keine Lösung in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld).
Wenn der Test zu laufen beginnt, werden Sie beobachten wie eine farbige Flüssigkeit über die Membran wandert.

5. Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Ergebnis nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.

10. Testauswertung

Positiv
Zwei farbige Linien erscheinen auf der Membran. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T).

Negativ
Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C). Im Testlinienbereich (T) erscheint keine farbige Linie.

Ungültig
Die Kontrolllinie erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der fest-

gelegten Auswertezeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.

Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit ihrem Distributor in Verbindung.

Hinweis:

Die Farbintensität im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der Konzentration der Analyten, die in der Probe vorhanden sind, variieren. Daher sollte jede Farbtönung im Testlinienbereich (T) als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt den Einsatz von Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Chlamydia Test (Abstrich/Urin) ist nur für professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch und nur für den qualitativen Nachweis von *C. trachomatis* bestimmt. Der Farbintensität oder der Breite der sichtbaren Linien sollte keine Bedeutung beigemessen werden.
- Der Test unterscheidet nicht zwischen *C. trachomatis*, *C. pneumonia* oder *C. psittaci.* Jedoch sollte der Test nicht zum Nachweis von anderen *Chlamydia* als *C. trachomatis* verwendet werden, da nur das beschriebene Probenmaterial mit Patientenmaterial getestet wurde. Von den drei Chlamydiaarten kommt in der Regel nur *C. trachomatis* im Urogenitaltrakt vor. Deswegen ist nicht zu erwarten, dass es bei Verwendung des angegebenen Probenmaterials zu einer Kreuzreaktivität mit anderen *Chlamydia spec.* kommt, die die Nachweisbarkeit von *C. trachomatis* beeinflussen würde. Bei einem positiven Ergebnis kann mit hoher Wahrscheinlichkeit von einer Infektion mit *C. trachomatis* ausgegangen werden.
- Der Nachweis von *Chlamydia* hängt von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Bakterien ab. Dies kann durch Probenentnahmemethoden und Patientenfaktoren wie Alter, frühere Geschlechtskrankheiten (STDs), Vorhandensein von Symptomen usw. beeinflusst werden. Besonders bei chronischen Infektionen ohne auffällige Symptomatik kann die Erregerzahl gering sein. Die untere Nachweisgrenze dieses Tests kann je nach Serovar variieren. Wenn die bakterielle Belastung zu niedrig ist, können falsch negative Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden.
- Proben, die hohe Mengen an Schleim oder Blut enthalten, können zu falsch positiven Ergebnissen führen.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollte die endgültige klinische Diagnose nicht auf den Ergebnissen eines einzigen Tests basieren, sondern vom Arzt nach der Evaluierung weiterer klinischer und labortechnischer Befunde gestellt werden.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Der NADAL® Chlamydia Test vs PCR (Zervixabstrich-Proben bei Frauen)

		NADAL® Chlamydia Test		
		+	–	Total
PCR	+	46	5	51
	–	4	95	99
	Total	50	100	150

Relative Sensitivität: 90,2% (76,9%-96,5%)*
Relative Spezifität: 96,0% (91,2%-99,4%)*
Gesamtübereinstimmung: 94,0% (89,4%-97,6%)*
*95% Konfidenzintervall

Der NADAL® Chlamydia Test vs PCR (Harnröhrenabstrich-Proben bei Männern)

		NADAL® Chlamydia Test		
		+	–	Total
PCR	+	42	12	54
	–	9	105	114
	Total	51	117	168

Relative Sensitivität: 77,8% (66,7%-88,2%)*
Relative Spezifität: 92,1% (86,4%-96,9%)*
Gesamtübereinstimmung: 93,0% (82,1%-92,3%)*
*95% Konfidenzintervall

Der NADAL® Chlamydia Test vs PCR (Urinproben bei Männern)

		NADAL® Chlamydia Test		
		+	–	Total
PCR	+	25	2	27
	–	2	40	42
	Total	27	42	69

Relative Sensitivität: 92,6% (87,1%-97,4%)*
Relative Spezifität: 95,2% (90,3%-97,9%)*
Gesamtübereinstimmung: 94,2% (89,5%-97,8%)*
*95% Konfidenzintervall

Nachweisgrenze

Es wurde gezeigt, dass die Antikörper, die im NADAL® Chlamydia Test (Abstrich/Urin) verwendet werden, alle bekannten fünfzehn *Chlamydia trachomatis*-Serovare nachweisen. Die untere Nachweisgrenze des Tests kann je nach Serovar von 1,0 x 10^5 EB/Test bis 2,5 x 10^5 EB /Test (EB = Elementary Body) variieren.

Kreuzreaktivität

Die Pathogene *C. psittaci* und *C. pneumoniae* weisen eine Kreuzreaktivität mit dem Test auf, da die LPS-Struktur bei allen *Chlamydia*-Spezies konserviert ist. Die Nachweisgrenzen für *C. psittaci* und *C. pneumoniae* wurden nicht bestimmt.

Die Kreuzreaktivität mit anderen Organismen wurde unter Verwendung von Suspensionen von 1,0 x 10^7 Organismen/Test untersucht. Die folgenden Organismen zeigten negative Ergebnisse, nachdem sie mit dem NADAL® Chlamydia Test getestet wurden:

Organismen	ATCC No.
Staphylococcus aureus	**12598**
Pseudomonas aeruginosa	**9721**
Enterococcus faecalis	**19433**
Gruppe C Streptokokken	**8132**
Klebsiella pneumoniae	**9987**
Branhamella catarrhalis	**25238**
Haemophilus influenzae	**9795**
Candida albicans	**1108**
Neisseria meningitides	**13077**
Neisseria gonorrhoeae	**19424**
Group B Streptococcus	**12401**
Proteus vulgaris	**33420**
Enterococcus faecium	**19000**
Proteus mirabilis	**35659**
Acinetobacter spp	**33305**
Salmonella choleraesius	**51812**
Gardnerella vaginalis	**49145**
Acinetobacter calcoaceticus	**51432**

Interferenz

Eine Interferenz-Studie zeigte, dass hohe Konzentrationen von frischem Blut (40 µl/Test) oder Mucin (0,4 mg/Test) in einigen Fällen schwache falsch positive Ergebnisse verursachen können.

Die folgenden Substanzen wurden Urin mit einer Konzentration von 10 mg/ml zugegeben und gemäß der Gebrauchsanweisung verarbeitet. Sie zeigten keine Interferenz bei der Entstehung negativer bzw. positiver Ergebnisse mit 1,0 x 10^5 EB/Test:

N-Acetylsalicylsäure	**Acetaminophen**
Ascorbinsäure	**Ampicillin**
Aspartam	**Benzoesäure**
Koffein	**Codein**
Cortison	**Cotinin**
Kreatinin	**EDTA**
Gentisinsäure	**Hydrocortison**
Oxalsäure	**Prednison**
Procain	**Chinin**
Thiamin	**D,L-Tryptophan**
Harnstoff	**Harnsäure**

Inter- und Intra-Chargen-Variabilität

Keine signifikante inter- oder intra-Chargen-Variabilität wurde beobachtet. Negative Proben ergaben konstant negative Ergebnisse für alle Bestimmungen (10-fach) mit drei unabhängigen Chargen. Positive Proben mit 2,5 x 10^5 oder 1,0 x 10^6 EB/Test zeigten zuverlässig positive Ergebnisse.

14. Referenzen

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbioly 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Nicrobiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 2, 2022-09-20 OM/UJ

NADAL® Chlamydia Test (Ref. 212007)

1. Intended Use

The NADAL® Chlamydia Test (swab/urine) is a rapid visual immunoassay for the qualitative presumptive detection of *Chlamydia trachomatis* in female cervical swab, male urethral swab and male urine specimens. This test is intended for use as an aid in the diagnosis of Chlamydia infection. The NADAL® Chlamydia Test is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

The genera *Chlamydia* and *Chlamydophila* include, among others, three species: *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis),* the recently reclassified *Chlamydophila pneumoniae (C. pneumoniae)*, primarily associated with humans, as well as *Chlamydia psittaci (C. psittaci)*, primarily associated with animals.

C. trachomatis comprises 15 known serovars and is associated with trachoma and genitourinary infections. 3 out of 15 serovars are associated with lymphogranuloma venereum (LGV). *C. trachomatis* infections are the most common sexually transmitted bacterial diseases. *C. trachomatis* infection is characterised by both a high prevalence and asymptomatic carriage rate, with frequent serious complications in both women and neonates. Complications of *Chlamydia* infection in women include cervicitis, urethritis, endometritis, pelvic inflammatory diseases (PID) and increased incidence of ectopic pregnancies and infertility. Vertical transmission of the disease during parturition from mother to neonate can result in inclusion conjunctivitis and pneumonia. In men, at least 40% of cases of nongonococcal urethritis are associated with *Chlamydia* infection and epididymitis. Approximately 70% of women with endocervical infections and up to 50% of men with urethral infections are symptomatic.

C. psittaci infection is associated with respiratory diseases in individuals exposed to infected birds and is not transmitted from human to human.

C. pneumoniae, first isolated in 1983, is associated with respiratory infections and pneumonia.

Earlier *Chlamydia* infection has been diagnosed by the detection of *Chlamydia* inclusions in tissue culture cells. Culture method is the most sensitive and specific laboratory method, but it is labour-intensive, expensive, lengthy (2-3 days) and not routinely available in most institutions. Direct tests such as immunofluorescence assays (IFA) require specialised equipment and a skilled operator to read the result. Today *Chlamydia* are frequently detected by PCR.

3. Test Principle

The NADAL® Chlamydia Test (swab/urine) detects *Chlamydia trachomatis* through visual interpretation of colour development on the internal test strip. Antigen-specific lipopolysaccharide (LPS) monoclonal antibody is immobilised in the test line region of the membrane. During testing, the specimen reacts with other monoclonal anti-*Chlamydia*-LPS antibodies conjugated to coloured particles and precoated onto the conjugate pad of the test. The mixture then migrates along the membrane by capillary action and interacts with reagents on the membrane. If there are sufficient *Chlamydia* antigens in the specimen, a coloured line will appear in the test line region of the membrane. The presence of this coloured line indicates a positive result, while its absence indicates a negative result.

The appearance of a coloured line in the control line region serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

Each test consists of a reagent strip mounted in a plastic housing.

The amount of *C. trachomatis* antibody precoated in the test line region is less than 0.001 mg, the amount of streptavidin precoated in the control line region is about 0.0003 mg. The conjugate pad contains 0.002 mg *C. trachomatis* antibody coupled onto red latex particles.

- 20 NADAL® Chlamydia test cassettes
- Provided additional material according to 93/42/EEC:
  20 sterile female cervical swabs CE2797

  Puritan Medical Products Company LLC
  31 School Street
  Guilford, Maine 04443-0149 USA (authorised EU representative EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)
- 20 extraction tubes with dropper-tips
- 1 extraction buffer A (10 ml) containing 0.2M NaOH

  Warning
  H315: Causes skin irritation
  H319 Causes serious eye irritation
- 1 extraction buffer B (9 ml) containing 0.2M HCl
- 1 tube holder
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- For male urine samples: specimen collection containers, disposable pipettes, centrifuge
- For male urethral samples: special swabs
- For female cervical swabs: additional swab or cotton ball to remove excessive mucus
- Timer

6. Storage & Stability

The test kit should be stored at 2-30°C and used until the expiry date printed on the packaging. The test cassette should remain in the sealed foil pouch until use. Do not freeze the test kit. Care should be taken to protect components of the test kit from contamination. Do not use the test if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to false results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not use tests or swabs if the foil pouches are damaged.
- To avoid cross-contamination of specimens, do not reuse tests or extraction tubes.
- Do not add samples to the reaction area (result area).

- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Do not substitute or mix components from different test kits, e.g. dropper-tips or caps from different extraction buffer bottles.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Extraction buffer A and extraction buffer B are slightly caustic. Avoid contact with eyes or mucous membranes. In the event of accidental contact, wash thoroughly with water.
- Humidity and extreme temperature can adversely affect test results.
- When the test procedure is completed, dispose of swabs carefully after autoclaving them at 121°C for at least 20 minutes. Alternatively, swabs can be treated with 0.5% sodium hypochlorite (i.e., household bleach) for one hour before disposal.
- Used testing materials should be discarded according to local regulations.
- Do not use cytology brushes with pregnant patients.

8. Specimen Collection and Preparation

The quality of specimens obtained is of extreme importance. Detection of *Chlamydia* requires a vigorous and thorough collection technique which provides cellular material rather than just body fluids. **Do not** use 0.9% sodium chloride to treat swabs before collecting specimens.

To collect female cervical swab specimens:

- Use the swab provided with the test kit.
- Before specimen collection, remove excess mucus from the endocervical area with a separate swab or a cotton ball and discard it.
- The swab should be inserted into the endocervical canal, past the squamocolumnar junction, until most of the tip is no longer visible. This will permit the acquisition of columnar or cuboidal epithelial cells, which are the main reservoir of *Chlamydia* bacteria.
- Firmly rotate the swab for 15-20 seconds and then withdraw it. Avoid contamination with exocervical or vaginal cells.
- If the swab is to be tested immediately, insert it into the extraction tube.

To collect male urethral swab specimens:

- Standard wire-shaft, fiber-tipped swabs or cytology brushes (not provided) should be used for urethral specimen collection. Instruct patients not to urinate for at least one hour prior to specimen collection.
- Insert the swab into the urethra about 2-4 cm, rotate it for 3-5 seconds and then withdraw it.
- If the swab is to be tested immediately, insert it into the extraction tube.

To collect male urine specimens:

- Collect 15-30 mL of clean, first morning urine in a sterile urine specimen container. First morning urine specimens are preferable in order to obtain the highest concentrations of *Chlamydia* antigens.
- Mix the urine specimen by inverting the container. Transfer 10 mL of the urine specimen into a centrifuge tube, add 10 mL distilled water and centrifuge the suspension at 3,000 rpm for 15 minutes.
- Keeping the tube inverted, carefully discard the supernatant. Remove any supernatant from the rim of the tube by dabbing it with absorbent paper.
- If the test is to be conducted immediately, treat the urine pellet according to section 9 “Test Procedure”.

Do not place a swab in any transport device containing transport medium. Transport medium interferes with the assay. Viability of bacteria is not required for the assay. If immediate testing is not possible, patient samples should be placed in a dry transport tube for storage or transportation. Swabs can be stored at room temperature (15-30°C) for 4 hours or refrigerated (2-8°C) for 24 hours. Urine specimens can be stored refrigerated (2-8°C) for 24 hours. Do not freeze specimens. All specimens should be brought to room temperature (15-30°C) prior to testing.

9. Test Procedure

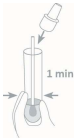
Bring the tests, reagents, specimens, and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

- Remove the NADAL® Chlamydia test cassette from the sealed foil pouch and use it as soon as possible. Best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch.
- Extract *Chlamydia* antigens according to the specimen type.

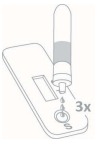
For cervical or urethral swab specimens:

1. Place a clean extraction tube into the tube holder. Holding the bottle with the extraction buffer A upright, add 8 drops to the extraction tube.
2. Insert the patient swab into the extraction tube and wait for 2 minutes. In the meantime, rotate the swab, using a circular motion, and press it against the sides of the extraction tube so that the liquid is expressed from the swab and can reabsorb. Repeat this process 15x.
3. Holding the bottle with the extraction buffer B upright, add 8 drops. Mix the liquids with the swab. Squeeze the swab firmly against the sides of the

extraction tube for 1 minute to expel as much liquid as possible from the swab. Discard the swab following the guidelines for handling infectious agents. Attach the dropper tip to the extraction tube.



4. The extracted specimen can be kept at room temperature for 60 minutes without affecting the test result.
5. Add 3 drops (approximately 100 µL) of the extracted specimen from the extraction tube to the specimen well (S) of the test cassette. Start the timer.
   Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S) and do not add any solution to the reaction area (result area).
   As the test begins to work, the colour will migrate along the membrane.



6. Wait for the coloured line(s) to appear. The result should be read after 10 minutes. Do not interpret the result after more than 20 minutes.

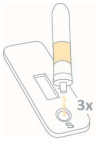
For male urine specimens:

1. Holding the bottle with the extraction buffer A upright, add 8 drops to the urine pellet in the centrifuge tube. Then draw the liquid up and down with a pipette to vigorously mix it until the suspension is homogeneous.

2. Transfer the whole solution from the centrifuge tube into an extraction tube. Let it stand for 2 minutes.

3. Holding the bottle with the extraction buffer B upright, add 8 drops to the extraction tube. Vortex it or tap the bottom of the tube to mix the solution. Let it stand for 1 minute.

4. Attach the dropper tip to the extraction tube. Add 3 drops (approximately 100 µL) of the extracted specimen from the extraction tube to the specimen well (S) of the test cassette. Start the timer.
   Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S) and do not add any solution to the reaction area (result area).
   As the test begins to work, the colour will migrate along the membrane.



5. Wait for the coloured line(s) to appear. The result should be read after 10 minutes. Do not interpret the result after more than 20 minutes.

10. Result Interpretation

Positive:
Two coloured lines appear on the membrane. One line appears in the control line region (C) and the other line appears in the test line region (T).

Negative:
Only one coloured line appears in the control line region (C). No coloured line appears in the test line region (T).

Invalid:
The control line fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your local distributor.

Note:
The colour intensity in the test line region (T) may vary depending on the concentration of the analyte present in the specimen. Therefore, any shade of colour in the test line region should be considered positive. Note that this is a qualitative test only and it cannot determine the concentration of the analyte in the specimen.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for the control line failure.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® Chlamydia Test (swab/urine) is for professional *in-vitro* diagnostic use only and should only be used for the qualitative detection of *C. trachomatis*. No meaning should be inferred from the colour intensity or width of any apparent lines.
- The test does not differentiate between *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* or *C. psittaci*. However it should not be used for the detection of other *Chlamydia* than *C. trachomatis,* as only the described sample material has been tested with patient material. Of the three *Chlamydia* species, usually only *C. trachomatis* is present in the urogenital tract. For this reason, if the intended sample material is used, cross-reactivity with other *Chlamydia spec.* that could influence the detection of *C. trachomatis* is not to be expected. A positive result most likely indicates an infection with *C. trachomatis*.

- Detection of *Chlamydia* depends on the number of bacteria present in the specimen. This may be affected by specimen collection methods and patient factors such as age, history of STD, presence of symptoms, etc. Especially in chronic infections without clear symptoms the number of pathogens may be low. The minimum detection level of this test may vary according to the serovar. If bacterial burden is very low in the sample, false negative results cannot be excluded.
- Samples containing high amounts of mucus or blood may cause false positive results.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

13. Performance Characteristics

The NADAL® Chlamydia Test vs PCR (female cervical swab specimens)

		NADAL® Chlamydia Test		
		+	–	Total
PCR	+	46	5	51
	–	4	95	99
	Total	50	100	150

Relative Sensitivity: 90.2% (76.9%-96.5%)*
Relative Specificity: 96.0% (91.2%-99.4%)*
Overall Agreement: 94.0% (89.4%-97.6%)*
*95% Confidence Interval

The NADAL® Chlamydia Test vs PCR (male urethral swab specimens)

		NADAL® Chlamydia Test		
		+	–	Total
PCR	+	42	12	54
	–	9	105	114
	Total	51	117	168

Relative Sensitivity: 77.8% (66.7%-88.2%)*
Relative Specificity: 92.1% (86.4%-96.9%)*
Overall Agreement: 93.0% (82.1%-92.3%)*
*95% Confidence Interval

The NADAL® Chlamydia Test vs PCR (male urine specimens)

		NADAL® Chlamydia Test		
		+	–	Total
PCR	+	25	2	27
	–	2	40	42
	Total	27	42	69

Relative Sensitivity: 92.6% (87.1%-97.4%)*
Relative Specificity: 95.2% (90.3%-97.9%)*
Overall Agreement: 94.2% (89.5%-97.8%)*
*95% Confidence Interval

Detection limit

It was demonstrated that the antibodies used in the NADAL® Chlamydia Test (swab/urine) detect all known fifteen *Chlamydia trachomatis* serovars. The minimum detection level of this test may vary according to serovar from 1.0 x 10^5 EB/test to 2.5 x 10^5 EB /test (EB = Elementary Body).

Cross-reactivity

The pathogens *C. psittaci* and *C. pneumoniae* show a cross-reactivity with the test because the LPS structure is conserved between all *Chlamydia* species. Detection limits for *C. psittaci* und *C. pneumoniae* have not been determined.

Cross-reactivity with other organisms was studied using suspensions of 1.0 x 10^7 organisms/test. The following organisms showed negative results when tested with the NADAL® Chlamydia Test (swab/urine):

Organisms	ATCC No.
Staphylococcus aureus	**12598**
Pseudomonas aeruginosa	**9721**
Enterococcus faecalis	**19433**
Group C Streptococcus	**8132**
Klebsiella pneumoniae	**9987**
Branhamella catarrhalis	**25238**
Haemophilus influenzae	**9795**
Candida albicans	**1108**
Neisseria meningitides	**13077**
Neisseria gonorrhoeae	**19424**
Group B Streptococcus	**12401**
Proteus vulgaris	**33420**
Enterococcus faecium	**19000**
Proteus mirabilis	**35659**
Acinetobacter spp	**33305**
Salmonella choleraesius	**51812**
Gardnerella vaginalis	**49145**
Acinetobacter calcoaceticus	**51432**

Interference

An interference study showed that high concentrations of fresh blood (40 µl/test) or mucin (0.4 mg/test) may cause weak false positive results in some cases.

The following substances were spiked in urine at 10 mg/ml and processed according to the package insert. They showed no interference with the formation of negative and positive results with 1 x 10^5 EB/test:

N-Acetylsalicylic acid	**Acetaminophen**
Ascorbic acid	**Ampicillin**
Aspartame	**Benzoic acid**
Caffeine	**Codeine**
Cortisone	**Cotinine**
Creatinine	**EDTA**
Gentisic acid	**Hydrocortisone**
Oxalic acid	**Prednisone**
Procain	**Quinine**
Thiamine	**D,L Tryptophan**
Urea	**Uric acid**

Inter-lot and intra-lot variability

No significant inter-lot or intra-lot variability was observed. Negative samples consistently yielded negative results for all determinations (10-fold) with three independent lots. Positive samples with 2.5 x 10^5 or 1.0 x 10^6 EB/test reliably showed positive results.

14. References

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbioly 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Nicrobiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 2, 2022-09-20 OM/UJ

NADAL® Chlamydia (Réf. 212007)

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Chlamydia (Ecouvillon/Urine) est un immunodosage visuel pour la détection qualitative de *Chlamydia trachomatis* dans les échantillons cervicaux chez la femme ainsi que dans les échantillons urétraux et d'urine chez les hommes. Ce test est un dispositif de diagnostic de l'infection à *Chlamydia*. Le test NADAL® Chlamydia est réservé à un usage professionnel.

2. Introduction et signification clinique

3 espèces appartiennent aux genres *Chlamydia* et *Chlamydophila* : *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis)*, récemment reclassées, *Chlamydia pneumoniae (C. pneumoniae)*, espèces associées aux humains ainsi que *Chlamydia psittaci (C. psittaci)*, espèces associées aux animaux.

C. trachomatis regroupent 15 sérotypes connus et est associé au trachome et aux infections urogénitales. 3 des 15 sérotypes sont associés à Lymphogranuloma venereum (LGV). *C. trachomatis* est la cause la plus fréquente au monde des maladies sexuellement transmissibles. *C.trachomatis* présente à la fois un taux de prévalence élevé et un taux de portage asymptomatique élevé, avec des complications graves fréquentes chez la femme et les nouveau-nés. Les complications d'une infection à *Chlamydia* chez la femme se manifestent par une cervicite, une urétrite, une endométrite, une pelvipéritonite et une incidence accrue de grossesse extra-utérine et de stérilité.

La transmission verticale de la maladie de la mère au nouveau-né pendant l'accouchement peut entraîner une conjonctivite à inclusions ou une pneumonie. Chez l'homme, au moins 40% des cas d'urétrite non spécifiques sont liés à une infection à *Chlamydia*. Environ 70% des cas chez les femmes présentant une infection endorcevicale et jusqu'à 50% des cas chez les hommes présentant une urétrite sont asymptomatiques.

Les infections à *C. psittaci* sont associées aux maladies des voies respiratoires chez des individus entrés en contact avec des oiseaux infectés et ne sont pas transmissibles d'homme à homme.

C. pneumoniae, isolé pour la première fois en 1983, est associé aux maladies des voies respiratoires et à la pneumonie.

Autrefois une infection à *Chlamydia* était diagnostiquée par la détection d'inclusion à *Chlamydia* dans les cellules de cultures tissulaires. Cette méthode de culture est la méthode de laboratoire la plus sensible et la plus spécifique. Il s'agit néanmoins d'une méthode à forte intensité de main d'œuvre, onéreuse et longue (2-3 jours) et qui n'est pas régulièrement disponible dans la plupart des établissements. Les tests directs de type immunofluorescence nécessitent du matériel spécialisé et une personne qualifiée pour la lecture des résultats. De nos jours, la détection de *Chlamydia* se fait principalement par technique PCR.

3. Principe du test

Le test NADAL® Chlamydia (Ecouvillon/Urine) détecte les *Chlamydia trachomatis* grâce à une interprétation visuelle de lignes de couleurs apparaissant sur la membrane interne du test. Les anticorps monoclonaux anti-antigènes spécifiques lipopolysaccharide (LPS) sont immobilisés sur la membrane. Pendant la manipulation du test, le prélèvement réagit à d'autres anticorps monoclonaux anti-*Chlamydia*-LPS liés à des particules d'or pré-coatés sur le tampon du conjugué du test. Le mélange migre le long de la membrane par capillarité et interagit avec les réactifs le long de la membrane. Si le prélèvement contient une quantité suffisante d'antigènes *Chlamydia*, une ligne colorée apparaît à hauteur de la ligne de test de la membrane. La présence de cette ligne colorée indique un résultat positif. L'absence de cette ligne indique un résultat négatif.

La ligne de contrôle (C) qui apparaît est une procédure de contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Matériel fourni

Chaque test est composé d'une bandelette réactive insérée dans une cassette en plastique.

La quantité d'anticorps *C. trachomatis* pré-coatés sur la zone de test est de < 0,001 mg. La quantité de Streptavidin pré-coatée dans la zone de contrôle est d'environ 0,0003 mg. Le tampon de conjugué contient 0,002 mg d'anticorps *C. trachomatis* liés à des particules de latex de couleur rouge.

- 20 cassettes NADAL® Chlamydia
- Matériel fourni selon la directive 93/42/CEE :
  20 écouvillons stériles pour les prélèvements cervicaux chez la femme CE2797

  Puritan Medical Products Company LLC
  31 School Street
  Guilford, Maine 04443-0149 USA (Représentant UE autorisé EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)
- 20 tubes d'extraction avec compte-goutte
- 1 solution d'extraction A "extraction buffer A" (10 ml) avec 0,2 M de NaOH

  Attention :
  H315 : Provoque une irritation cutanée
  H319 Provoque une sévère irritation des yeux.
- 1 solution d'extraction B "extraction buffer B" (9 ml) avec 0,2 M de HCl
- 1 porte-tube
- 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Pour les prélèvements urinaires chez l'homme : Récipient collecteur, pipettes à usage unique, centrifugeuse
- Pour les prélèvements urétraux chez l'homme : Ecouvillons spécifiques
- Pour les prélèvements cervicaux chez la femme : Eventuellement compresses ou coton pour éliminer le superflu de mucus
- Chronomètre

6. Péremption et conservation des réactifs

Conserver le test à une température comprise entre 2 et 30°C dans son emballage d'origine jusqu'à la date de péremption. Conserver la cassette dans son emballage fermé jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler le kit. Il est recommandé de protéger les kits de toute contamination. Ne pas utiliser les tests si des signes de contamination bactérienne ou de

précipités sont observables. Une contamination biologique des doseurs, des contenants ou des réactifs peut entraîner des résultats faussés.

7. Précautions et mesures de sécurité

- Test uniquement réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Veiller à lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas utiliser les tests ou les écouvillons si l'emballage est endommagé.
- Ne pas réutiliser les tests et les tubes d'extraction afin d'éviter toute contamination croisée entre les prélèvements.
- Ne pas déposer de prélèvement sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive afin d'éviter toute contamination.
- Ne pas interchanger ou mélanger les composants de différents tests (réactifs, bouchon des flacons, compte-goutte).
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation du test.
- Utiliser des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Manipuler les échantillons en les considérant comme de potentiels réactifs infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et l'état sanitaire des animaux ne certifient pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Il est donc recommandé de considérer les prélèvements comme des matières infectieuses et d'appliquer les mesures de précaution nécessaires (ne pas avaler ou inhaler*).*
- Les solutions d'extraction A et B "extraction buffer A" et « extraction buffer B » sont légèrement corrosives. Eviter tout contact avec les yeux et les muqueuses. En cas de contact, rincer avec beaucoup d'eau.
- L'humidité et les températures extrêmes peuvent influencer les résultats du test.
- Une fois la manipulation terminée, éliminer les écouvillons après le passage dans l'autoclave pendant 20 minutes à 121°C. Il est également possible de traiter les écouvillons à l'hypochlorite de sodium 0,5% pendant une heure.
- Les composants du test doivent être éliminés selon les directives locales en vigueur.
- Ne pas utiliser de brossette cervicale chez les patientes enceintes.

8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

La qualité du prélèvement est d'une importance primordiale. La détection de *Chlamydia* nécessite un recueil des prélèvements énergique et minutieux qui permet d'obtenir de la matière cellulaire plutôt que du simple liquide organique.

Ne pas traiter l'écouvillon de recueil des prélèvements avec du chlorure de sodium 0,9%.

Recueil des prélèvements cervicaux chez la femme :

- Utiliser exclusivement l'écouvillon fourni avec le test.
- Avant le recueil des prélèvements, éliminer le mucus en excédent de la région endocervicale avec une compresse ou un coton puis éliminer l'écouvillon ou le coton.
- Introduire l'écouvillon dans le canal endocervical et franchir la jonction pavimento-cylindrique jusqu'à ce que l'embout ne soit presque plus visible. Il est ainsi possible de prélever les cellules épithéliales cylindriques ou cubiques, principaux réservoir de *Chlamydia*.
- Faire pivoter énergiquement l'écouvillon pendant 15-20 secondes puis retirer l'écouvillon. Eviter toute contamination avec des cellules exocervicales ou vaginales.
- Pour les tests effectués juste après le prélèvement, mettre l'écouvillon dans le tube d'extraction.

Recueil des prélèvements urétraux chez l'homme :

- Utiliser des écouvillons stériles sur tige métallique ou plastique standard. Demander au patient de ne pas uriner pendant au moins une heure avant le prélèvement.
- Introduire l'écouvillon de 2 à 4 cm dans l'urètre, le faire pivoter 3-5 secondes puis le retirer.
- Pour les tests effectués juste après le prélèvement, mettre l'écouvillon dans le tube d'extraction.

Recueil des prélèvements d'urine chez l'homme :

- Recueillir 15-30 mL d'urine prélevée au matin dans un flacon stérile. Les prélèvements d'urine du matin présentent une concentration plus élevée en antigènes de *Chlamydia*.
- Mélanger le prélèvement d'urine en retournant le flacon. Transférer 10 ml d'urine dans un tube à centrifuger ajouter 10 ml d'eau distillée et centrifuger à 3000 tr/min pendant 15 minutes.
- Mettre le surnageant au rebus avec soin. Retirer le surnageant des bords du tube en l'essuyant sur du papier absorbant.
- Pour les tests effectués juste après le prélèvement, utiliser la pastille d'urine conformément au paragraphe 9 "Exécution du test" de cette notice d'utilisation.

Ne pas transporter les écouvillons dans un milieu de transport. Un milieu de transport peut influencer les tests. La viabilité des bactéries n'est pas nécessaire pour ce test. Si le test ne peut pas être effectué immédiatement, le prélèvement du patient doit être conservé ou transporté dans un tube sec. Les prélèvements peuvent être conservés pendant 4 heures à température ambiante (15-30°C) ou 24 heures en milieu réfrigéré (2-8°C). Les prélèvements d'urine peuvent être conservés 24 heures en milieu réfrigéré (2-8°C). Ne pas congeler les prélèvements. Amener tous les prélèvements à température ambiante (15-30°C) avant la réalisation du test.

9. Exécution du test

Amener les tests, les réactifs, les prélèvements et/ou les contrôles à température ambiante (15-30°C) avant la réalisation du test.

- Sortir la cassette NADAL® Chlamydia de son emballage scellé et utiliser la cassette dès que possible. Pour un

résultat optimal, effectuer le test immédiatement après l'ouverture de l'emballage.

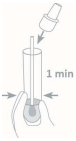
- Extraire les antigènes du *Chlamydia* en fonction du type d'échantillons.

Pour les échantillons cervicaux chez la femme et urétraux chez l'homme

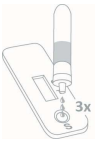
1. Placer un tube d'extraction propre dans le support prévu à cet effet. Tenir le flacon de la solution d'extraction A "extraction buffer A" à la vertical et verser 8 gouttes dans le tube d'extraction.

2. Introduire immédiatement l'écouvillon du patient dans le tube d'extraction. Attendre 2 minutes. Pendant ce temps, faire pivoter l'écouvillon et le comprimer contre les parois du tube de manière à en extraire le plus de liquide possible et à faciliter la réabsorption. Répéter cette manipulation au moins 15 fois.

3. Tenir le flacon de la solution d'extraction B "extraction buffer B" à la vertical et verser 8 gouttes dans le tube d'extraction. Mélanger les liquides à l'aide de l'écouvillon. Presser l'écouvillon pendant 1 minute contre les parois du tube de façon à en retirer le plus de liquide possible. Eliminer l'écouvillon selon les normes en vigueur concernant l'élimination des agents infectieux. Placer l'embout du compte-goutte au-dessus du tube d'extraction.



4. Le prélèvement extrait peut être conservé 60 minutes à température ambiante sans que les résultats du test soient modifiés.

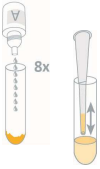


5. Verser 3 gouttes (env. 100 µl) du prélèvement extrait issu du tube d'extraction dans le puits de dépôt (S) de la cassette. Démarrer le chronomètre.

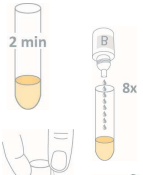
   Eviter toute formation de bulles d'air dans les puits de dépôt de la cassette et ne pas déposer de solution sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
   Au début du test, un liquide coloré migre le long de la membrane.

6. Attendre que la/les ligne(s) colorée(s) apparaissent. Interpréter les résultats après 10 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 20 minutes.

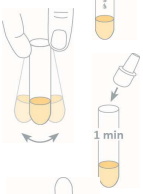
Pour les prélèvements d'urine chez les hommes :



1. Tenir le flacon de la solution d'extraction A "extraction buffer A" à la verticale et verser 8 gouttes sur la pastille d'urine dans le tube à centrifuger. Mélanger vigoureusement en aspirant puis en expulsant le liquide à l'aide d'une pipette jusqu'à ce que la suspension soit homogène.

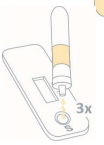


2. Transférer l'ensemble de la solution du tube à centrifuger dans un tube d'extraction. Laisser reposer 2 minutes.
3. Tenir le flacon de la solution d'extraction B "extraction buffer B" à la verticale et verser 8 gouttes dans le tube d'extraction. Passer au vortex ou tapoter le fond du tube pour mélanger la solution. Laisser reposer 1 minute.



4. Placer l'embout du compte-goutte au dessus du tube d'extraction. Verser 3 gouttes (env. 100 µl) du prélèvement extrait issu du tube d'extraction dans le puits de dépôt (S) de la cassette. Démarrer le chronomètre.

   Eviter toute formation de bulles d'air dans les puits de dépôt de la cassette et ne pas déposer de solution sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
   Au début du test, un liquide coloré migre le long de la membrane.



5. Attendre que la ou les lignes colorées apparaissent. Interpréter les résultats après 10 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 20 minutes.

10. Interprétation des résultats

Positif :
Deux lignes colorées apparaissent sur la membrane. Une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de contrôle (C) et une autre ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test (T).

Négatif :
Une ligne colorée apparaît au niveau de la zone de contrôle (C). Aucune ligne de couleur n'apparaît au niveau de la zone de test (T).

Non-valide :
Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de contrôle. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation fixée doivent être jetés.

Contrôler la procédure d'exécution du test et répéter le test avec une nouvelle cassette. Dans le cas où le problème persiste, ne plus utiliser le kit du test et contacter le distributeur.

Remarque :
L'intensité de la couleur de la ligne de test (T) peut varier selon la concentration des analytes présents dans le prélèvement. La moindre apparition d'une ligne de couleur (T) doit être considérée comme un résultat positif. Il s'agit ici d'un test qualitatif, la concentration en analytes dans le prélèvement ne peut être déterminée.

Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

11. Contrôle qualité

La cassette contient une procédure de contrôle interne.

La ligne colorée apparaissant au niveau de la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la manipulation a été correctement effectuée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) recommandent l'utilisation de matériel de contrôles afin de confirmer la fiabilité du test.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Chlamydia (Ecouvillon/Urine) est réservé au diagnostic *in-vitro* et à un usage professionnel. Il a été conçu pour la détection qualitative de *C. trachomatis*. L'intenstié de la couleur de ligne ou la largeur de la ligne n'ont aucune incidence sur les résultats du test.
- Le test ne différencie pas *C. trachomatis*, *C. pneumonia* ou *C. psittaci*. Le test n'a cependant pas été conçu pour la détection d'autres *Chlamydia* que *C. trachomatis*. En effet, seul le matériel de prélèvement décrit dans cette notice d'utilisation a été testé avec les échantillons de patients. Parmi les trois types de *Chlamydia*, seul *C. trachomatis* est présent dans l'appareil génito-urinaire. Il est donc peu probable, en utilisant la matrice indiquée, qu'une réaction croisée pouvant influencée la détection de *C. trachomatis* ait lieu avec d'autres *Chlamydia spec*. Un résultat positif est très probablement synonyme d'une infection à *C. trachomatis.*
- La détection de *Chlamydia* dépend de la quantité de bactéries présentes dans le prélèvement. Ce nombre peut être affecté par la méthode de prélèvement utilisée ou par différents facteurs liés au patient tels que l'âge, les antécédents de maladies sexuellement transmissibles (MST), la présence de symptômes etc. Le taux de détection minimal de ce test peut varier en fonction du sérotype. Lorsque la charge bactériale est trop faible, des faux négatifs sont probables.
- Les prélèvements présentant une forte quantité de mucus ou de sang peuvent générer des faux positifs.
- Comme pour avec tous les tests diagnostiques, un diagnostic clinique définitif ne devrait être établi sur la base d'un seul test, mais établi par un médecin en corrélation avec des données techniques de laboratoire et cliniques.

13. Performance du test

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (Prélèvement cervicaux chez la femme)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	46	5	51
	–	4	95	99
	Total	50	100	150

Sensibilité relative : 90,2% (76,9%-96,5%)*
Spécificité relative : 96,0% (91,2%-99,4%)*
Concordance générale : 94,0% (89,4%-97,6%)*
*95% Intervalle de confiance

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (prélèvement urétraux chez les hommes)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	42	12	54
	–	9	105	114
	Total	51	117	168

Sensibilité relative : 77,8% (66,7%-88,2%)*
Spécificité relative : 92,1% (86,4%-96,9%)*
Perfomance générale: 93,0% (82,1%-92,3%)*
*95% Intervalle de confiance

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (prélèvement d'urine chez les hommes)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	25	2	27
	–	2	40	42
	Total	27	42	69

Sensibilité relative : 92,6% (87,1%-97,4%)*
Spécificité relative : 95,2% (90,3%-97,9%)*
Concordance générale : 94,2% (89,5%-97,8%)*
*95% Intervalle de confiance

Seuil de détection

Les anticorps utilisés avec le test NADAL® Chlamydia (Ecouvillon/Urine) reconnaissent les quinze sérogroupes de *Chlamydia trachomatis* connus. La limite de détection minimale peut varier selon le sérogroupe de 1,0 x 10^5 EB/Test jusqu'à 2,5 x 10^5 EB /Test (EB = Elementary Body)

Réactions croisées

Les agents pathogènes *C. psittaci* et *C. pneumoniae* présentent une réaction croisée avec le test car la structure LPS a été conservée avec toutes les espèces de *Chlamydia.* Le seuil de détection pour *C. psittaci* et *C. pneumoniae* n'a pas été déterminé.

La réactivité croisée avec d'autres organismes a été étudiée à partir de suspension de 1,0 x 10^7 organismes/test. Les organismes suivants ont montré des résultats négatifs après avoir été testés avec le test NADAL®Chlamydia.

Organismes	No. ATCC
Staphylococcus aureus	**12598**
Pseudomonas aeruginosa	**9721**
Enterococcus faecalis	**19433**
Group C Streptococcus	**8132**
Klebsiella pneumoniae	**9987**
Branhamella catarrhalis	**25238**
Hemophilus influenzae	**9795**
Candida albicans	**1108**
Neisseria meningitides	**13077**
Neisseria gonorrhea	**19424**
Group B Streptococcus	**12401**
Proteus vulagris	**33420**
Enterococcus faecium	**19000**
Proteus mirabilis	**35659**

Organismes	No. ATCC
Acinetobacter spp	**33305**
Salmonella	**51812**
Gardnerella vaginalis	**49145**
Acinetobacter calcoaceticus	**51432**

Interférence

Une étude sur l'interférence a montré que de fortes concentrations de sang frais (40 µl/Test) ou de mucine (0,4 mg/Test) peuvent générer de faibles faux positifs dans certains cas.

Les substances suivantes ont été ajoutées à de l'urine à une concentration de 10 mg/ml et traitées selon les normes en vigueur. Elles n'ont montré aucune interférence lors de l'apparition de résultats positifs /négatifs à 1,0 x 10^5 EB/Test:

Acide acétylsalicylique	**Acétaminophène**
Acide ascorbique	**Ampicilline**
Aspartam	**Acide benzoïque**
Caféine	**Codéine**
Cortisone	**Cotinine**
Kréatinine	**EDTA**
Acide gentisique	**Hydrocortisone**
Acide oxalique	**Preddnisone**
Procaïne	**Chinine**
Thiamine	**Trytophane D, L**
Carbamide	**Acide urique**

Variabilité inter- et intra-lots

Aucune variabilité inter- et intra-lots signifiante n'a été observée. Les résultats étaient constamment négatifs avec des prélèvements négatifs pour toutes les déterminations (10x) sur trois lots indépendants. Les prélèvements positifs à 2,5 x 10^5 ou 1,0 x 10^6 EB/Test ont indiqué des résultats positifs fiables.

14. Bibliographie

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbioly 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Nicrobiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 2, 2022-09-20 PF

Test NADAL® Chlamydia (Ref. 212007)

1. Uso previsto

El test NADAL® Chlamydia (hisopo/orina) es un inmunoensayo visual rápido para la detección cualitativa de la presunta presencia de *Chlamydia trachomatis* en hisopos cervicales de mujeres, así como en hisopos uretrales y muestras de orina de hombres. Este test está diseñado para ayudar en el diagnóstico de infección por Chlamydia y está destinado únicamente al uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

Los géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila* incluyen, además de otras, tres especies: *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis),* recientemente reclasificada como *Chlamydia pneumoniae (C. pneumoniae)*, asociada principalmente a humanos, así como la *Chlamydia psittaci (C. psittaci)*, asociada principalmente a animales.

La *C. trachomatis* comprende 15 serotipos conocidos y se asocia con el tracoma y las infecciones genitourinarias. De los 15 serotipos, 3 se asocian al linfogranuloma venéreo (LGV). Las infecciones por *C. trachomatis* son las enfermedades bacterianas de transmisión sexual más comunes. La *C. trachomatis* se caracteriza por su alta prevalencia y frecuencia asintomática de portadores, con frecuentes complicaciones graves en mujeres y neonatos. Las complicaciones de una infección por *Chlamydia* en mujeres incluyen cervicitis, uretritis, endometritis, enfermedades inflamatorias pélvicas (EIP) y alta incidencia de embarazos ectópicos e infertilidad. La transmisión vertical de la enfermedad entre madre e hijo durante el parto puede causar conjuntivitis y neumonía. En varones, por lo menos el 40% de los casos de uretritis no gonocócica, están asociados a la infección de *Chlamydia* y epididimitis. Alrededor del 70% de las mujeres con infecciones endocervicales y del 50% de los hombres con infecciones uretrales son sintomáticos.

La infección por *C. psittaci* está asociada con enfermedades respiratorias en individuos expuestos a pájaros infectados y no se transmite de persona a persona.

La *C. pneumoniae*, aislada por primera vez en 1983, se asocia con infecciones respiratorias y pneumonía.

La infección temprana por *Chlamydia* ha sido diagnosticada por la detección de inclusiones de *Chlamydia* en células de cultivo de tejidos. El método de cultivo es el método de laboratorio más sensible y específico, pero resulta intensivo, caro y largo (2-3 días), y no se encuentra generalmente disponible en la mayor parte de las instituciones. Los test directos, como los ensayos de inmunofluorescencia (IFA), requieren un equipamiento especializado y un operador capacitado para leer el resultado. Actualmente, la *Chlamydia* se detecta principalmente mediante PCR.

3. Principio del test

El test NADAL® Chlamydia (hisopos/orina) detecta *Chlamydia trachomatis* mediante la interpretación visual del desarrollo del color en la tira de test interna. Los anticuerpos anti-antígeno específico lipopolisacáridos (LSP) se encuentran inmovilizados en la línea de test de la membrana. Durante el ensayo, la muestra reacciona con otros anticuerpos anti-chlamydia LPS que están conjugados con partículas coloreadas y recubren la almohadilla de conjugados del test. La mezcla migra entonces a través de la membrana por acción capilar e interactúa con los reactivos. Si hay suficientes antígenos de *Chlamydia* en la muestra, se formará una línea coloreada en la región de la línea de test de la membrana. La presencia de esta línea coloreada indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

La aparición de una línea coloreada en la región de control sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente y que la membrana ha reaccionado correctamente.

4. Reactivos y materiales provistos

Cada test está formado por una tira reactiva en una carcasa de plástico.

La cantidad de anticuerpos de *C. trachomatis* que recubren la línea de test es inferior a 0,001 mg, la cantidad de estreptavidina que recubre la membrana en la línea de control es de aproximadamente 0,0003 mg. La almohadilla de conjugado contiene 0,002 mg de anticuerpos de *C. trachomatis* acoplados a partículas rojas de látex.

- 20 casetes de test NADAL® Chlamydia
- Material provisto de acuerdo a 93/42/EEC:
  20 hisopos estériles para las muestras cervicales de mujeres
  CE2797

  Puritan Medical Products Company LLC
  31 School Street
  Guilford, Maine 04443-0149 USA (representante UE autorizado EMERGO EUROPE, La Haya, Holanda)
- 20 tubos de extracción con cuentagotas
- 1 búfer de extracción A “extraction buffer A” (10 ml) que contiene 0,2M NaOH

  Peligro
  H315 Causa irritación de la piel
  H319 Causa irritación grave de los ojos
- 1 búfer de extracción B “extraction buffer B” (9 ml) que contiene 0,2M HCl
- 1 portatubos
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Para muestras de orina de pacientes varones: recipientes para recolectar la muestra, pipetas desechables, centrifugadora.
- Para muestras uretrales de varones: hisopos especiales
- Para muestras cervicales de pacientes mujeres: hisopos adicionales o bolas de algodón para retirar el exceso de mucosidad
- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacene el dispositivo de test a 2-30°C hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. Mantenga el casete en su envase sellado hasta su uso. No congele el kit. Proteja los componentes del test de su contaminación. No utilice el test si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo dispensado, recipientes o reactivos puede conducir a resultados falsos.

7. Advertencias y precauciones

- Sólo apto para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.

- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice los test o hisopos si el envase está dañado.
- Para evitar la contaminación cruzada de las muestras, no reutilice los test ni los tubos de extracción.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits de test, p. ej. cuentagotas o tapones de diferentes frascos de búfer de extracción.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Use ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- Las soluciones búfer de extracción A y B son ligeramente cáusticas. Evite el contacto con los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto accidental, lavar bien con agua.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados del test.
- Una vez completado el procedimiento, deseche con cuidado los hisopos después de esterilizarlos en el autoclave a 121°C durante al menos 20 minutos. Alternativamente, se pueden tratar los hisopos con hipoclorito de sodio al 0,5% (p. ej. lejía doméstica) durante una hora antes de su eliminación.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.
- No utilice cepillos de citología con pacientes embarazadas.

8. Recolección de muestras y preparación

La calidad de las muestras obtenidas es de extrema importancia. La detección de la *Chlamydia* requiere una técnica de recolección enérgica y exhaustiva que proporcione material celular, y no sólo fluidos corporales. **No** utilice cloruro de sodio al 0,9% para tratar los hisopos antes de recolectar las muestras.

Para recolectar muestras de hisopos cervicales de mujeres:

- Utilice sólo el búfer suministrado con el kit de test.
- Antes de recolectar la muestra, retire el exceso de mucosidad del área endocervical con un hisopo separado o una bola de algodón, y deséchelo.
- El hisopo se debe insertar en el canal endocervical, pasando la unión escamoso-cilíndrica, hasta que apenas se pueda ver la punta. Esto permitirá la adquisición de células epiteliales columnares o cuboidales, que son la mayor reserva de la bacteria de *Chlamydia*.
- Rote firmemente el hisopo durante 15-20 segundos y a continuación retírelo. Evite la contaminación con células exocervicales o vaginales.
- Si se va a analizar el hisopo inmediatamente, insértelo en el tubo de extracción.

Para recolectar muestras de hisopos uretrales de pacientes varones:

- Se recomienda utilizar hisopos estándar con punta de fibra y eje de alambre, o cepillos de citología (no suministrados) para la recolección de las muestras uretrales. Informe a los pacientes de que no deben orinar desde al menos una hora antes de la recogida de la muestra.
- Inserte el hisopo en la uretra hasta unos 2-4 cm, rótelo durante 3-5 segundos y después retírelo.
- Si se va a analizar el hisopo inmediatamente, insértelo en el tubo de extracción.

Para recolectar muestras de orina de pacientes varones:

- Recolecte 15-30 ml de la primera orina limpia de la mañana en un recipiente estéril para muestras de orina. Se recomienda recolectar la primera orina de la mañana para obtener la mayor concentración de antígenos de *Chlamydia*.
- Mezcle la muestra invirtiendo el recipiente. Transfiera 10 ml de muestra de orina a un tubo de centrifugado, añada 10 ml de agua destilada y centrifugue la suspensión a 3.000 rpm durante 15 minutos.
- Mantenga el tubo invertido y elimine con cuidado el sobrenadante. Retire el sobrenadante del borde del tubo frotando con papel absorbente.
- Si se va a realizar el test inmediatamente, trate el sedimento de orina según lo indicado en el apartado 9 “Procedimiento del test”.

No sitúe los hisopos en ningún dispositivo de transporte que contenga medio de transporte, ya que interfiere con el ensayo. No se requiere viabilidad de la bacteria para la prueba. Si no es posible realizar la prueba inmediatamente, se deben colocar las muestras del paciente en un tubo seco de transporte para su almacenamiento o transporte. Los hisopos se pueden almacenar a temperatura ambiente (15-30°C) durante 4 horas o refrigerados (2-8°C) durante 24 horas. Las muestras de orina se pueden mantener refrigeradas (2-8°C) hasta 24 horas. No las congele. Lleve todas las muestras a temperatura ambiente (15-30°C) antes de la realización de la prueba.

9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, los reactivos y/o los controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

- Retire el casete de test de su envase y utilícelo lo más pronto posible. Para obtener mejores resultados, realice la prueba inmediatamente después de abrir el envase.
- Extraiga los antígenos de *Chlamydia* atendiendo al tipo de muestra.

Para las muestras de hisopos cervicales o uretrales:

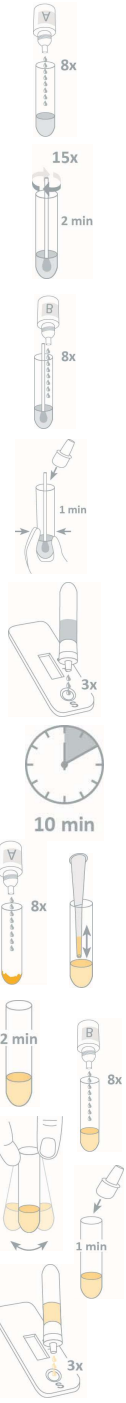
1. Coloque un tubo de extracción en el portatubos. Sujete el frasco con el búfer de

extracción A en vertical, añada 8 gotas al tubo de extracción.

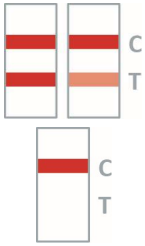
2. Inserte el hisopo del paciente en el tubo de extracción y espere 2 minutos. Mientras tanto, rote el hisopo con movimientos circulares, y presiónelo contra los lados del tubo de extracción, para soltar el líquido del hisopo y poderlo reabsorber. Repita este proceso 15 veces.
3. Sujete el frasco con el búfer de extracción B en vertical, y añada 8 gotas. Mezcle los líquidos con el hisopo. Presione el hisopo con firmeza contra las paredes del tubo de extracción durante 1 minuto para que el hisopo suelte tanto líquido como sea posible. Elimine el hisopo siguiendo las directrices para el tratamiento de agentes infecciosos. Coloque el cuentagotas en el tubo de extracción.
4. La muestra extraída se puede mantener a temperatura ambiente durante 60 minutos sin afectar al resultado.
5. Añada 3 gotas (aprox. 100 µL) de la muestra extraída del tubo de extracción al pocillo para la muestra (S) del casete de test. Active el cronómetro.
   Evite la formación de burbujas en el pocillo para la muestra (S) y no añada ninguna solución al área de reacción (área de resultados).
   Cuando el test comience a trabajar, el color se desplazará a través de la membrana.
6. Espere a que aparezca la(s) línea(s) coloreada(s). Lea el resultado a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.

Para muestras de orina de pacientes varones:

1. Sujetando el frasco con el búfer de extracción A en vertical, añada 8 gotas al sedimento de orina en el tubo de centrifugación. A continuación, desplace el líquido arriba y abajo con una pipeta para mezclarlo enérgicamente hasta que la suspensión sea homogénea.
2. Transfiera toda la solución del tubo de centrifugación a un tubo de extracción. Déjelo en reposo durante 2 minutos.
3. Sujetando el frasco con el búfer de extracción B en vertical, añada 8 gotas al tubo de extracción. Agítelo con un vórtex o golpee el fondo del tubo para mezclar la solución. Déjelo reposar durante 1 minuto.
4. Coloque el cuentagotas en el tubo de extracción. Añada 3 gotas (aprox. 100 µL) de la muestra extraída del tubo de extracción al pocillo para la muestra (S) del casete de test. Active el cronómetro.
   Evite la formación de burbujas en el pocillo para la muestra (S) y no añada ninguna solución al área de reacción (área de resultados).
   Cuando el test comienza a trabajar, el color se desplazará a través de la membrana.
5. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) coloreada(s). Lea el resultado a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.



10. Interpretación del resultado



Positivo:
Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana. Una en el área de control (C) y la otra en el área de test (T).

Negativo:
Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en el área de test (T).

No válido:
No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de utilizar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.

Nota:
La intensidad de la línea en el área de test (T) puede variar en función de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de la línea de prueba se debe considerar positiva. Recuerde que este test sólo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito en la muestra.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

Se trata de la línea coloreada que aparece en la región de control (C), actuando como control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

Las B*uenas Prácticas de Laboratorio (BPL)* recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Chlamydia (hisopo/orina) sólo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro* y únicamente debe utilizarse para la detección cualitativa de *C. trachomatis*. La intensidad del color o la anchura de las líneas formadas no tienen relevancia.

- El test no diferencia entre *C. trachomatis*, *C. pneumonia* o *C. psittaci.* Sin embargo, no se debería utilizar para la detección de otro tipo de *Chlamydia* que la *C. trachomatis,* ya que sólo se ha probado dicho material de muestra con material del paciente. Por lo general, de las tres especies de *Chlamydia*, sólo la *C. trachomatis* está presente en el tracto urogenital. Por esta razón, si se utiliza el material de muestra indicado, no se espera que se produzcan reacciones cruzadas con otras especies de *Chlamydia* que puedan influir en la detección de *C. trachomatis*. Un resultado positivo indica con alta probabilidad una infección por *C. trachomatis*.
- La detección de *Chlamydia* depende de la cantidad de la bacteria presente en la muestra. Esto puede verse afectado por los métodos de recolección de la muestra o por las características del paciente, como la edad, historial de ETS, presencia de síntomas, etc. El nivel mínimo de detección de este test puede variar según el serotipo. Si la carga bacteriana en la muestra es muy baja, no se pueden descartar resultados negativos falsos.
- Si las muestras contienen gran cantidad de mucosidad o sangre, se pueden producir resultados positivos falsos.
- Al igual que con otros test, el diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de un único test, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.

13. Características del rendimiento

Comparación del test NADAL® Chlamydia con el PCR (muestras de hisopos cervicales de mujeres)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	46	5	51
	–	4	95	99
	Total	50	100	150

Sensibilidad relativa: 90,2% (76,9%-96,5%)*
Especificidad relativa: 96,0% (91,2%-99,4%)*
Concordancia general: 94,0% (89,4%-97,6%)*

*95% intervalo de confianza

Comparación del test NADAL® Chlamydia con el PCR (muestras de hisopos uretrales de varones)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	42	12	54
	–	9	105	114
	Total	51	117	168

Sensibilidad relativa: 77,8% (66,7%-88,2%)*
Especificidad relativa: 92,1% (86,4%-96,9%)*
Concordancia general: 93,0% (82,1%-92,3%)*

*95% intervalo de confianza

Comparación del test NADAL® Chlamydia con el PCR (muestras de orina de varones)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	25	2	27
	–	2	40	42
	Total	27	42	69

Sensibilidad relativa: 92,6% (87,1%-97,4%)*
Especificidad relativa: 95,2% (90,3%-97,9%)*
Concordancia general: 94,2% (89,5%-97,8%)*

*95% intervalo de confianza

Límite de detección

Se ha demostrado que los anticuerpos utilizados en el test NADAL® Chlamydia (hisopos/orina) detectan los quince serotipos conocidos de *Chlamydia trachomatis*. El nivel mínimo de detección de este test puede variar en función del serotipo de 1,0 x 10^5 CE/test a 2,5 x 10^5 CE /test (CE = cuerpo elemental).

Reacciones cruzadas

Los patógenos *C. psittaci* y *C. pneumoniae* muestran una reacción cruzada con el test a causa de la estructura LPS conservada entre todas las especies de *Chlamydia*. No se han determinado los límites de detección para *C. psittaci* y *C. pneumoniae*.

Se estudiaron las reacciones cruzadas con otros organismos utilizando suspensiones de 1,0 x 10^7 organismos/test. Los siguientes organismos mostraron resultados negativos cuando se probaron con el test NADAL® Chlamydia (hisopos/orina):

Organismos	ATTCC No.
Staphylococcus aureus	**12598**
Pseudomonas aeruginosa	**9721**
Enterococcus faecalis	**19433**
Grupo Streptococcus	**8132**
Klebsiella pneumoniae	**9987**
Branhamella catarrhalis	**25238**
Hemophilus influenzae	**9795**
Candida albicans	**1108**
Neisseria meningitides	**13077**
Neisseria gonorrhoeae	**19424**
Grupo Streptococcus B	**12401**
Proteus vulagris	**33420**
Enterococcus faecium	**19000**
Proteus mirabilis	**35659**
Acinetobacter spp	**33305**
Salmonella choleraesius	**51812**
Gardnerella vaginalis	**49145**
Acinetobacter calcoaceticus	**51432**

Interferencia

Un estudio de interferencia mostró que las concentraciones altas de sangre fresca (40 µl/test) o mucina (0,4 mg/test) pueden producir en algunos casos resultados positivos débiles falsos.

Se añadieron las siguientes sustancias a la orina a 10 mg/ml y se procesaron según las instrucciones de uso. No mostraron interferencia con la formación de resultados positivos y negativos con 1 x 10^5 CE/test:

N-ácido acetilsalicílico	**Acetaminofeno**
Ácido ascórbico	**Ampicilina**
Aspartamo	**Ácido benzoico**
Cafeína	**Codeína**
Cortisona	**Cotinina**
Creatinina	**EDTA**

Ácido gentísico	**Hidrocortisona**
Ácido oxálico	**Prednisona**
Procaína	**Quinina**
Tiamina	**D, L triptófano**
Urea	**Ácido úrico**

Variabilidad interlote e intralote

No se observaron variabilidades interlote o intralote significantes. Las muestras negativas mostraron resultados negativos para todas las determinaciones (10 veces) con tres lotes independientes. Las muestras positivas con 2,5 x 10^5 ó 1,0 x 10^6 CE/test mostraron resultados positivos.

14. Referencias

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbioly 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Nicrobiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 2, 2022-09-20 MP

Test NADAL® Chlamydia (Ref. 212007)

1. Scopo del test

Il test NADAL® Chlamydia (tampone/urina) è un immunodosaggio visivo rapido per la rilevazione qualitativa della *Chlamydia trachomatis* in tamponi cervicali femminili, tamponi uretrali maschili e campioni di urina maschili. Il test funge da coadiuvante nella diagnosi di infezioni da Clamidia. Il test NADAL® Chlamydia è concepito solo per uso professionale.

2. Introduzione e Significato Clinico

I generi *Clamidiae Clamidofila* comprendono tre specie: *Chlamydia trachomatis (C.trachomatis), Clamidia pneumoniae (C. pneumoniae*) recentemente riclassificata e originariamente associata all`uomo, così come la *Clamidia psittaci (C. psittaci),* originariamente associata agli animali.

C. trachomatis comprende 15 serovirus riconosciuti ed è associato al trachoma e ad infezioni genitourinarie. 3 dei 15 serovirus sono associabili al cosiddetto lymphogranuloma venereum (LGV). Quelle causate dal *C. trachomatis* sono tra le principali infezioni batteriche comunemente trasmesse sessualmente. Esse sono prevalentemente asintomatiche sia nelle donne che nei neonati. Le complicazioni che derivano dalle infezioni da *clamidia*, includono cervicite, uretrite, endometriosi, infiammazioni pelviche (PID), incidenza di gravidanze extrauterine ed infertilità. La trasmissione verticale della malattia durante il parto, dalla madre al neonato, può risultare in congiuntivite neonatale e polmonite. Negli uomini, almeno il 40% dei casi delle uretriti nongonococciche sono associate alla *Clamidia* e all`epididimite. Circa il 70% delle donne con infezioni endocervicali e fino al 50% degli uomini con infezioni uretrali sono asintomatiche.

C. psittaci è associato a malattie respiratorie in individui esposti al contatto con uccelli malati e non è trasmissibile da uomo ad uomo.

C. pneumoniae, isolato per la prima volta nel 1983, è associato ad infezioni respiratorie e polmonite.

Precedentemente, le infezioni da *Clamidia* erano diagnosticate tramite la rilevazione di inclusioni della *Clamidia* in colture cellulari. Il metodo delle colture è il metodo di laboratorio più sensibile e specifico ma è anche molto impegnativo, costoso, lungo (2-3 giorni) e non compreso tra gli esami di routine in molte strutture. Test diretti come l`immunofluorescenza (IFA) richiedono l`utilizzo di dispositivi specifici e personale qualificato per la lettura dei risultati. Oggi le infezioni da *clamidia* sono spesso individuate tramite PCR.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Chlamydia (tampone/urina) rileva la *Chlamydia trachomatis* attraverso l`interpretazione visiva dello sviluppo di colore sulla striscia interna del test. L`anticorpo monoclonale lipossaccaride (LPS) è immobilizzato sulla regione della linea del test. Durante l`esecuzione del test, il campione reagisce con gli altri anticorpi monoclonali anti-*Clamidia*-LPS coniugati con le particelle colorate presenti sul tampone coniugato del test. Il composto migra poi lungo la membrana per azione capillare e va ad interagire con i reagenti presenti sulla membrana. Se nel campione sono presenti sufficienti antigeni della *Clamidia*, si sviluppa una linea colorata nella regione della linea del test sulla membrana. La presenza di questa linea colorata nella regione del test indica un risultato positivo mentre la sua assenza è indice di un risultato negativo.

La presenza di una linea colorata nella regione della linea di controllo funge da controllo procedurale interno indicando che è stato utilizzato il corretto volume di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e Matreriali Forniti

Ogni test è costituito da una striscia reattiva inserita in una cassetta di plastica.

Il valore di anticorpi *C. trachomatis* presenti sulla membrana nella regione della linea del test è minore di 0,001 mg, il valore di streptavidina presente in corrispondenza della regione della linea di controllo è di circa 0,0003 mg. Il tampone coniugato contiene 0,002 mg di anticorpi di *C. trachomatis* accoppiati in particelle di latex rosse.

- 20 test a cassetta NADAL® Chlamydia
- Materiali forniti secondo la regolamentazione 93/42/EEC:
  20 tamponi cervicali sterili CE2797

  Puritan Medical Products Company LLC
  31 School Street
  Guilford, Maine 04443-0149 USA (authorised EU representative EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)
- 20 tubi di estrazione con punta contagocce
- 1 fiala di soluzione di estrazione A “extraction buffer A” (10 ml) contenente 0,2M NaOH

  Avvertenze
  H315: causa irritazioni della pelle
  H319: causa gravi irritazioni agli occhi
- 1 fiala di soluzione di estrazione B “extraction buffer B” (9 ml) contenente 0,2 M HCl
- 1 sostegno per le provette
- 1 istruzioni per l`uso

5. Altri materiali richiesti

- Per la raccolta di campioni maschili: contenitore di raccolta del campione, pipette monouso, centrifuga
- Raccolta dei tamponi uretrali maschili: tamponi speciali
- Raccolta dei tamponi cervicali: tamponi aggiuntivi o batuffoli di cotone per rimuovere l`eventuale eccesso di muco
- Timer

6. Conservazione e Stabilità

Conservare il kit a 2-30°C ed utilizzarlo fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. I test vanno conservati nella loro confezione fino all`utilizzo. Non congelare i test. Evitare la contaminazione dei componenti del test. Non utilizzare in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare all`ottenimento di falsi risultati.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente la procedura del test prima di eseguirlo.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.

- Non utilizzare il test oppure i tamponi nel caso in cui le confezioni dovessero risultare danneggiate.
- Per evitare il rischio di contaminazione incrociata non riutilizzare i test oppure le provette di estrazione.
- Non aggiungere i campioni all`area di risultato (result area).
- Non toccare la zona di reazione (result area) al fine di evitare il verificarsi di episodi di contaminazione.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti, contagocce oppure coperchi di differenti fiale di soluzione.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l`assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- La soluzione di estrazione A e la soluzione di estrazione B sono leggermente caustiche. Evitare il contatto con occhi o mucose. In caso di contatto accidentale, lavare con abbondante acqua.
- Umiditá o temperature elevate possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.
- Una volta completata la procedura del test, smaltire i tamponi dopo averli sterilizzati a 121°C per almeno 20 minuti. In alternativa, trattare i tamponi con 0,5% di ipoclorito di sodio (ad es. candeggina domestica) per un`ora prima di smaltirli.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.
- Non utilizzare spazzole citologiche su donne incinte.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

La qualità dei campioni ottenuti è di fondamentale importanza per la buona riuscita del test. L`individuazione della *Clamidia* richiede una consistente e accurata tecnica di raccolta in grado di fornire materiale cellulare e non solo fluidi corporei. **Non** utilizzare 0,9% di cloruro di sodio per trattare i tamponi prima della raccolta del campione.

Raccolta del campione cervicale (donna):

- Utilizzare il tampone fornito.
- Prima di raccogliere il campione, rimuovere ogni possibile eccesso di mucosa dall`area endocervicale utilizzando un altro tampone o un batuffolo di cotone.
- Inserire il tampone nel canale endocervicale dopo la giunzione squamo colonnare finchè quasi la totalità della punta del tampone non sia più visibile. Questo permetterà la raccolta di cellule epiteliali colonnari o cuboidali che rappresentano le principali riserve di batteri della *Clamidia*.
- Ruotare il tampone per 15-20 secondi, quindi estrarlo. Evitare il rischio di contaminazione con cellule endocervicali o vaginali.
- Se il tampone viene analizzato subito, inserirlo nella provetta di estrazione.

Raccolta tampone uretrale (uomo):

- Per la raccolta del tampone uretrale dovrebbero essere impiegati tampioni con asta di ferro, punta in fibra o spazzole citologiche (non fornite). Il paziente non dovrebbe urinare un`ora prima della raccolta del campione.
- Inserire il tampone nell`uretra fino a circa 2-4 cm di profondità, ruotarlo per 3-5 secondi, quindi estrarlo.
- Se il tampone viene analizzato subito, inserirlo nella provetta di estrazione.

Raccolta campione di urina uomo:

- Raccogliere 15-30 mL di urina del mattino in un contenitore sterile. I campioni di prima urina del mattino sono preferibili al fine di ottenere le concentrazioni più elevate di antigeni della *Clamidia*.
- Mescolare il campione di urina capovolgendo il contenitore. Trasferire 10 mL del campione di urina in una centrifuga, aggiungere 10 mL di acqua distillata e centrifugare la sospensione a 3,000 rpm per 15 minuti.
- Mantenendo la provetta capovolta, smaltire attentamente il supernatante. Rimuovere ogni traccia di supernatante dagli orli della provetta asciugandola con della carta assorbente.
- Se il test non viene eseguito immediatamente, trattare il campione di urina come indicato nella sezione 9 “Procedura del Test”.

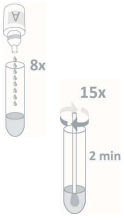
Non inserire il tampone in supporti per il trasporto contenenti terreni di trasporto. I terreni di trasporto, infatti, potrebbero interferire con l`analisi. La vitalità dei batteri non è richiesta per questo test. Nel caso in cui non fosse possibile utilizzare immediatamente i campioni, si raccomanda di inserire il tampone in un contenitore asciutto, sterile per il trasporto. I tamponi possono essere conservati a temperatura ambiente (15-30°C) per 4 ore oppure al fresco (2-8°C) per 24 ore. I campioni di urina possono essere conservati al fresco (2-8°C) per 24 ore. Non congelare i campioni. Portare tutti i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test.

9. Procedura del Test

Portare i test ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test.

- Rimuovere il test a cassetta NADAL® Chlamydia dalla confezione ed utilizzare il test appena possibile. Si otterranno i risultati migliori se il test viene eseguito immediatamente dopo l`apertura della confezione.
- Estrarre gli antigeni della *Clamidia* secondo il tipo di campione.

Per tamponi cervicali o uretrali:



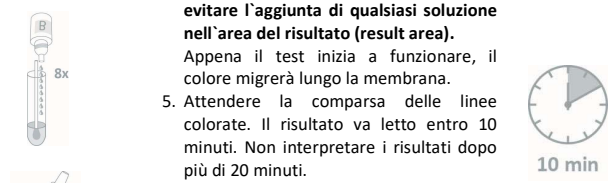
1. Posizionare una provetta pulita sull`apposito sostegno. Mantenendo la fiala contenente la soluzione di estrazione A in posizione verticale, aggiungere 8 gocce al tubo di estrazione.
2. Inserire il tampone da analizzare nella provetta e aspettare 2 minuti. Nel

frattempo, ruotare il tampone e premere contro le pareti del tubo di estrazione in modo che il liquido fuoriesca dal tampone e possa essere riassorbito. Ripetere questo processo per 15 volte.

3. Mantenendo il flacone contenente la soluzione di estrazione B in posizione verticale, aggiungere 8 gocce. Mescolare i liquidi con il tampone. Strizzare con forza il tampone contro le pareti del tubo di estrazione per 1 minuto al fine di espellere quanto più liquido possibile dal tampone. Smaltire il tampone seguendo le norme per lo smaltimento di agenti infettivi. Attaccare il contagocce alla provetta.
4. Il campione estratto può essere conservato a temperatura ambiente per 60 minuti senza influire sul risultato del test.
5. Attaccare il contagocce alla provetta. Aggiungere circa 3 gocce (circa 100 µL) del campione estratto, nel pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta. Avviare il timer.
   Evitare la formazione di bolle d`aria nel pozzetto di raccolta del campione (S) ed evitare l`aggiunta di qualsiasi soluzione nell`area del risultato (result area).
   Appena il test inizia a funzionare, il colore migrerà lungo la membrana.
6. Attendere la comparsa delle linee colorate. Il risultato va letto entro 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 20 minuti.

Campioni di urina (donne):

1. Mantenendo il flacone contenente la soluzione di estrazione B in posizione verticale, aggiungere 8 gocce al campione di urina contenuto nella provetta per la centrifuga. Poi, muovere il liquido su e giù con una pipetta in modo da mescolarlo bene fin quando la sospensione risulta omogenea.
2. Trasferire la soluzione ottenuta, dalla centrifuga al tubo di estrazione. Lasciare riposare per 2 minuti.
3. Mantenendo il flacone contenente la soluzione di estrazione B in posizione verticale, aggiungere 8 gocce alla provetta di estrazione. Mescolare adeguatamente. Lasciare riposare per 1 minuto.
4. Attaccare il contagocce alla provetta. Aggiungere circa 3 gocce (circa 100 µL) del campione estratto, nel pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta. Avviare il timer.
   Evitare la formazione di bolle d`aria nel pozzetto di raccolta del campione (S) ed evitare l`aggiunta di qualsiasi soluzione nell`area del risultato (result area).
   Appena il test inizia a funzionare, il colore migrerà lungo la membrana.
5. Attendere la comparsa delle linee colorate. Il risultato va letto entro 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 20 minuti.

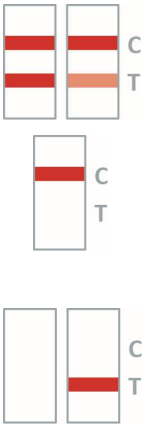


10. Interpretazione dei risultati

Positivo:
Compaiono due linee colorate. Una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) e una linea nella regione della linea del test (T).

Negativo:
Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo (C). Non compare alcuna linea nella regione della linea del test (T).

Non valido:
La linea di controllo non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l`utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



Nota bene:
L`intensità della linea del test nella regione della linea del test (T) varia in base alla concentrazione degli analiti presenti nel campione. Pertanto, qualsiasi sfumatura di colore nell`area della linea del test (T) va considerata come indicativa di risultato psitivo. Nota Bene: questo è un test qualitativo ed in quanto tale non può essere utilizzato per determinare la concentrazione degli analiti nel campione.

Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta in maniera corretta e che sono state applicate le giuste tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio* consiglia comunque l`impiego di materiali di controllo a conferma ulteriore del corretto funzionamento del test.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Chlamydia (tampone/urina) è concepito esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro* e non dovrebbe essere impiegato per l`individuazione qualitativa della *C. trachomatis*. Nessun significato è attribuibile all`intensità di colore o ampiezza delle linee comparse.
- Il test non è in grado di distinguere tra *C. trachomatis*, *C. pneumonia* o *C. psittaci*. Questo test non va utilizzato per la rilevazione di altre tipologie di *Clamidia* diverse dalla *C. trachomatis* in quanto solo il campione descritto è stato analizzato con materiale del paziente. Delle tre specie di Clamidia, generalmente solo il *C. trachomatis* si trova nel tratto urogenitale. Pertanto, se viene utilizzato il campione indicato, non dovrebbe verificarsi una reazione incrociata con le altre specie di Clamidia che potrebbero influenzare la rilevazione del *C. trachomatis*. Un risultato positivo indica con molta probabilità la presenza di un`infezione da *C. trachomatis*.
- La determinazione della presenza dell`infezione dipende dalla concentrazione di batteri presente nel campione. Ciò può essere influenzato dai metodi di raccolta del campione e fattori quali età del paziente e storico delle malattie sessualmente trasmissibili (STDs), presenza di sintomi ecc. Il livello minimo di rilevazione del test può variare in base al serovar. Se la concentrazione di batteri è molto bassa nel campione, risultati falsi negativi non sono da escludere.
- I campioni contenenti quantità elevate di muco o sangue potrebbero invece causare dei falsi positivi.
- Come per tutti i test diagnostici, la diagnosi finale non dovrebbe basarsi esclusivamente sui risultati di un singolo test ma dovrebbe essere elaborata dal medico solo dopo la valutazione di tutte le analisi cliniche e di laboratorio condotte.

13. Caratteristiche Tecniche

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (tamponi cervicali)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Totale
PCR	+	46	5	51
	–	4	95	99
	Totale	50	100	150

Sensibilità Relativa: 90,2% (76,9%-96,5%)*
Specificità Relativa: 96,0% (91,2%-99,4%)*
Andamento complessivo: 94,0% (89,4%-97,6%)*

*95% Intervallo di confidenza

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (tamponi uretrali, uomo)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Totale
PCR	+	42	12	54
	–	9	105	114
	Totale	51	117	168

Sensibilità Relativa: 77,8% (66,7%-88,2%)*
Specificità Relativa: 92,1% (86,4%-96,9%)*
Andamento complessivo: 93,0% (82,1%-92,3%)*

*95% Intervallo di confidenza

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (campione di urina, uomo)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Totale
PCR	+	25	2	27
	–	2	40	42
	Totale	27	42	69

Sensibilità Relativa: 92,6% (87,1%-97,4%)*
Specificità Relativa: 95,2% (90,3%-97,9%)*
Andamento complessivo: 94,2% (89,5%-97,8%)*

*95% Intervallo di confidenza

Limiti di rilevazione

È stato dimostrato che gli anticorpi utilizzati nel test NADAL® Chlamydia (tampone/urina) sono in grado di rilevare tutti e 15 i serovirus *Chlamydia trachomatis* riconosciuti. Il livello minimo di rilevazione del test può variare in base al serovar da 1.0×10^5 CE/test a 2.5×10^5 CE/test (CE= corpo elementare).

Reattività incrociata

I patogeni *C. psittaci* e *C. pneumoniae* mostrano una reattività incrociata con il test in quanto la struttura dell`LPS è conservata tra tutte le specie di *Clamidia*. I limiti di rilevazione per i *C. psittaci* e *C. pneumoniae* non sono stati determinati.

La reattività incrociata con altri organismi è stata studiata usando sospensioni di 1.0×10^7 organismi/test. I seguenti organismi mostrano risultati negativi se testati utilizzando il test NADAL® Chlamydia (tampone/urina):

Organismi	ATCC No.
Staphylococcus aureus	**12598**
Pseudomonas aeruginosa	**9721**
Enterococcus faecalis	**19433**
Gruppo	**8132**
Klebsiella pneumoniae	**9987**
Branhamella catarrhalis	**25238**
Hemophilus influenzae	**9795**
Candida albicans	**1108**
Neisseria meningitides	**13077**
Neisseria gonorrhea	**19424**
Streptococcus Gruppo B	**12401**
Proteus vulagris	**33420**
Enterococcus faecium	**19000**
Proteus mirabilis	**35659**
Acinetobacter spp	**33305**
Salmonella choleraesius	**51812**
Gardnerella vaginalis	**49145**
Acinetobacter calcoaceticus	**51432**

Interferenza

Uno studio sull`interferenza ha mostrato che alte concentrazioni di sangue fresco (40 µl/test) o mucina (0.4 mg/test) potrebbero causare, in alcuni casi, deboli falsi positivi. Le seguenti sostanze sono state adulterate nell`urina a 10 mg/ml e trattate secondo le istruzioni per l`uso. Non hanno mostrato interferenza con la formazione di risultati negativi e risultati positivi 1×10^5 CE/test:

N-Acido acetilsalicilico	**Acetaminofene**
Acido Ascorbico	**Ampicillina**
Aspartame	**Acido benzoico**

Caffeina	**Codeina**
Cortisone	**Cotinina**
Creatinina	**EDTA**
Acido gentisico	**Idrocortisone**
Acido Ossalico	**Prednisone**
Procaina	**Chinidina**
Tiamina	**D,L Tryptophan**
Urea	**Acido Urico**

Variabilità inter ed intra lotto

Non è stata osservata alcuna variabilità inter o intra lotto. I campioni negativi hanno prodotto risultati negativi per tutte le determinazioni (10 ripetizioni) con tre lotti indipendenti. I campioni positivi con 2.5 x 10^5 oppure 1.0 x 10^6 CE/test hanno mostrato risultati positivi affidabili.

14. Bibliografía

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbioly 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Nicrobiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 2, 2022-09-20 BN

Test NADAL® Chlamydia (Ref. 212007)

1. Zastosowanie

Test NADAL® Chlamydia (wymaz/mocz) jest szybkim, wizualnym testem immunochromatograficznym do jakościowego oznaczania *Chlamydia trachomatis* z wymazu szyjki macicy u kobiet, jak również z wymazu z cewki moczowej oraz moczu u mężczyzn. Test jest środkiem pomocniczym przy diagnozie infekcji chlamydią. Test NADAL® Chlamydia przeznaczony jest wyłącznie do użytku profesjonalnego.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Do rodzajów *Chlamydia* i *Chlamydophila* należą m.in. 3 gatunki: *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis)*, *Chlamydia pneumoniae (C. pneumoniae*) gatunek, który został niedawno na nowo sklasyfikowany i w pierwszej kolejności kojarzony jest z człowiekiem, jak również gatunek kojarzony głównie ze zwierzętami *Chlamydia psittaci (C. psittaci)*.

C. trachomatis zawiera 15 serotypów i jest w połączeniu z jaglicą oraz infekcjami układu moczowo-płciowego 3 z 15 serotypów kojarzonych jest z Lymphogranuloma venereum (LGV). *Infekcje C. trachomatis* należą do najczęstszych chorób bakteryjnych, przenoszonych drogą płciową. *Infekcje C. trachomatis* oznaczone są częstymi, ciężkimi komplikacjami u kobiet i noworodków, poprzez ich wysokie rozpowszechnianie oraz asymptomatyczny wskaźnik przenoszenia. Do komplikacji po infekcji *Chlamydia* u kobiet należą zapalenie szyjki macicy, zapalenie cewki moczowej, zapalenie błony śluzowej macicy, zapalenia podbrzusza oraz częstsze powstawanie ciąż pozamacicznych. Infekcje mogą również prowadzić do niepłodności.

Pionowe przekazanie choroby od matki do noworodka podczas porodu może prowadzić do zapalenia spojówek ciałek włączonych i zapalenia płuc. U mężczyzn przynajmniej 40% wszystkich przypadków niegonokokowego zapalenia cewki moczowej to skutki infekcji *Chlamydia* lub zapalenia najądrza. Około 70% kobiet z infekcjami szyjki macicy oraz do 50% mężczyzn z infekcjami cewki moczowej jest symptomatycznych.

Infekcje C. psittaci są powiązane z chorobami dróg oddechowych u osób, które miały kontakt z zakażonymi ptakami i nie są przenoszone z człowieka na człowieka.

C. pneumoniae, wyizolowana pierwszy raz w roku 1983, powiązana jest z chorobami układu oddechowego i zapaleniem płuc .

W przeszłości infekcje *Chlamydia* diagnozowane były na podstawie oznaczania kultury tkanek komórkowych *Chlamydia*. Metoda kulturowa jest najbardziej czułą i najbardziej swoistą metodą laboratoryjną, jednak wymaga dużego nakładu pracy, jest droga i długo trwa (2-3 dni) i w wielu instytucjach nie jest ona dostępna rutynowo. Bezpośrednie badania, takie jak test immunofluorescencyjny (IFA) wymagają specjalnego wyposażenia oraz wyszkolonego personelu, aby zinterpretować wyniki. Dzisiaj oznaczanie *Chlamydia* następuję najczęściej metodą PCR.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Chlamydia (wymaz/mocz) wsakzuje na obecność *Chlamydia trachomatis* poprzez wizualną interpretację rozwoju kolorów na wewnętrznych paskach testowych. Monoklonalne przeciwciała przeciw specyficznym lipopolisacharydom antygenu (LPS), unieruchomione są w obszarze linii testowej membrany. Podczas badania próbka reaguje z innymi monoklonalnymi przeciwciałami anty-*Chlamydia*-LPS, które sprzężone są do kolorowych cząsteczek i powleczone są na płytce konjugatu testu. Mieszanina wędruje następnie przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany i zachodzi w interakcję z odczynnikami znajdującymi się na membranie. Jeżeli w próbce znajduje się wystarczająca ilość antygenów Strep A, to w obszarze linii testowych membrany pojawi się kolorowa linia. Pojawienie się tej kolorowej linii wskazuje na wynik pozytywny, podczas gdy brak linii oznacza wynik negatywny.

Pojawienie się kolorowej linii w obszarze linii kontrolnej (C) służy jako kontrola procesowa i wskazuje na to, że dodana została wystarczająca ilość próbki, oraz że membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

Każdy test składa się z paska reakcyjnego, który umieszczony jest w plastikowej obudowie.

Ilość przeciwciał *C. trachomatis*, które są powleczone w obszarze linii testowych, wynosi < 0,001 mg, ilość streptoawidyny, która wstępnie powleczona jest w obszarze linii kontrolnej, wynosi ok. 0,0003 mg. Płytka konjugatu zawiera 0,002 mg przeciwciał *C. trachomatis*, które sprzężone są do czerwonych cząsteczek lateksowych.

- 20 testów kasetowych NADAL® Chlamydia
- Materiał dodatkowy, dostarczony zgodnie z dyrektywą 93/42/EWG:
  20 sterylnych wacików wymazu szyjki macicy (dla kobiet)
  CE2797

  Puritan Medical Products Company LLC
  31 School Street
  Guilford, Maine 04443-0149 USA (upoważniony reprezentant w UE EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)
- 20 probówek ekstrakcyjnych
- 1 bufor ekstrakcyjny A “extraction buffer A” (10 ml) z 0,2 M NaOH

  Uwaga
  H315: Powoduje podrażnienia skóry
  H319: Działa drażniąco na oczy
- 1 bufor ekstrakcyjny B “extraction buffer B” (9 ml) z 0,2 M HCl
- 1 stojak na rurki
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Dla próbek moczu u mężczyzn: Pojemniki na próbkę, pipety jednorazowe, wirówka
- Dla próbek wymazu z cewki moczowej u mężczyzn: specjalne waciki do wymazu
- Dla próbek wymazu u kobiet: ewentualnie wacik lub wata do usunięcia nadmiaru śluzu
- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestaw testowy przechowywać należy w temperaturze 2°C - 30°C do daty wskazanej na opakowaniu. Kaseta testowa musi

zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać zestawów testowych. Test i komponenty testu należy chronić przed kontaminacją. Testu nie należy używać przy oznakach mikrobiologicznej kontaminacji lub wytrąceniu. Biologiczne zanieczyszczenie urządzeń dozujących, zbiorników lub probówek, może prowadzić do błędnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testów lub wacików, gdy opakowanie jest uszkodzone.
- Nie stosować ponownie probówek, aby nie doszło do zanieczyszczenia pomiędzy próbkami.
- Nie dodawać próbek do pola reakcji (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych, takich jak odczynniki, zakraplacze lub zamykania buteleczek.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zewnętrznego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie zupełnie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności (np. unikać połknięcia lub wdychania*)*.
- Bufor ekstrakcyjny A “extraction buffer A” oraz bufor ekstrakcyjny B “extraction buffer B“ są lekko żrące. Unikać jakiegokolwiek kontaktu z oczami i błoną śluzową. Podczas przypadkowego kontaktu przemyć dokładnie wodą.
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Gdy przeprowadzenie testu zostało zakończone, ostrożnie zutylizować wacik po jego sterylizacji przez 20 minut w temperaturze 121°C. Alternatywnie waciki przed ich utylizacją mogą być potraktowane 0,5% podchlorynu sodu (tj. wybielacz domowy) przez jedną godzinę.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.
- Nie używać szczotek cytologicznych u kobiet w ciąży.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Jakość próbek jest niezwykle ważna. Oznaczenie *Chlamydia* wymaga energicznej oraz dokładnej techniki pobierania próbki, która dostarcza przede wszystkim materiału komórkowego, a nie płynów ustrojowych. **Nie** traktować wacika wymazu przed pobraniem próbki 0,9% chlorkiem sodu.

Pobranie próbki wymazu z szyjki macicy u kobiet:

- Użyć zestawu testowego wraz z dostarczonym wacikiem wymazu.
- Przed pobraniem próbki usunąć przy pomocy odrębnego wacika nadmiar śluzu z obszaru szyjki macicy i zutylizować wacik.
- Wacik wymazu powinien zostać wprowadzony do kanału szyjki macicy, przy łuskowatej tkance obok strefy przejściowej, aż do momentu, w którym największa część wacika nie będzie już widoczna. Umożliwia to zebranie prostopadłościennych lub kolumnowych komórek nabłonkowych, w których głównie osiedlają się bakterie *chlamydii*.
- Energicznie obracać wacik wymazu przez 15-20 sekund i następnie go wyciągnąć. Unikać przy tym zanieczyszczenia komórkami z szyjki macicy lub komórkami waginalnymi.
- Jeżeli test ma być przeprowadzony bezpośrednio, należy wacik włożyć do rurki ekstrakcyjnej.

Pobranie próbek wymazu cewki moczowej u mężczyzn:

- Do pobierania wymazu z cewki moczowej stosować tylko waciki o standardowych włóknach z drucianym uchwytem lub szczotki cytologiczne (niezawarte w zestawie). Poinformować pacjenta, że nie powinien oddawać moczu przynajmniej 1 godzinę przed pobraniem próbki.
- Wprowadzić wacik wymazu na głębokość ok. 2-4 cm do cewki moczowej, obracać go przez 3-5 Sekund i następnie go wyciągnąć.
- Jeżeli test ma być przeprowadzony bezpośrednio, to wacik należy włożyć do rurki ekstrakcyjnej.

Pobieranie próbki moczu u mężczyzn:

- Zebrać 15-30 mL czystego pierwszego porannego moczu do sterylnego pojemnika na mocz. Preferowane są pierwsze próbki porannego moczu, aby osiągnąć najwyższą koncentrację antygenów *Chlamydia.*
- Wymieszać mocz przez odwrócenie zbiornika. Dodać 10 ml próbki moczu do rurki centryfugi, dodać 10 ml destylowanej wody i odwirować zawiesinę przy 3.000 przez 15 minut.
- Obrócić rurkę i usunąć osad. Usunąć dokładnie osad z krawędzi rurki, poprzez wytarcie chłonnym papierem.
- Jeżeli test ma być przeprowadzony bezpośrednio, potraktować mocz zgodnie z punktem 9 "Przeprowadzenie testu".

Nie wkładać wacika do urządzenia transportowego z podłożem transportowym. Podłoże transportowe wpływa na test. Żywotność bakterii nie jest wymagana dla tego testu. Jeżeli bezpośrednie przeprowadzenie badania nie jest możliwe, próbki pacjentów powinny być przechowywane i transportowane w suchej rurce transportowej. Waciki wymazu mogą być przechowywane przez 4 godziny przy temperaturze pokojowej (15-30°C) lub 24 godziny schłodzone przy temperaturze 2-8°C. Próbki moczu mogą być przechowywane schłodzone (2-8°C) do 24 godzin. Nie zamrażać próbek. Wszystkie próbki muszą zostać przywrócone do temperatury pokojowej (15-30°C) przed przeprowadzeniem testu.

Test NADAL® Chlamydia (Ref. 212007)

9. Przeprowadzanie testu

Przed przeprowadzeniem testu, doprowadzić wszystkie testy, próbki, odczynniki i/oraz kontrole do temperatury pokojowej (15-30°C).

- Wyciągnąć kasetę testową NADAL® Chlamydia z zamkniętego opakowania foliowego i przeprowadzić test tak szybko, jak jest to tylko możliwe. Najlepsze wyniki zostają osiągnięte, gdy test przeprowadzony zostaje bezpośrednio po jego otwarciu.
- Wyekstrahować antygeny *Chlamydia* zgodnie z rodzajem próbki.

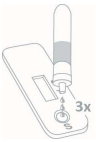
Dla próbek wymazu z szyjki macicy albo wymazu z cewki moczowej:

1. Umieścić czystą rurkę ekstrakcyjną w stojaku na rurki. Trzymać buteleczkę bufora ekstrakcyjnego A “extraction buffer A" pionowo i dodać 8 kropli do rurki ekstrakcyjnej.

2. Włożyć wacik wymazu pacjenta do rurki ekstrakcyjnej i zaczekać 2 minuty. W międzyczasie obracać wacik ruchem okrężnym i przyciskać go do ścianki rurki tak, aby wycisnąć z wacika jak najwięcej cieczy i ponownie ją zaabsorbować. Powtórzyć czynność przynajmniej 15 razy.

3. Trzymać buteleczkę z buforem ekstrakcyjnym B “extraction buffer B“ pionowo i dodać 8 kropli. Wymieszać płyny przy pomocy wacika. Przyciskać wacik przez jedną minutę do ścianki rurki, tak, aby wydostać z niego jak najwięcej cieczy. Zutylizować wacik zgodnie z dyrektywami dotyczącymi obchodzenia się ze środkami zakaźnymi. Nałożyć zakraplacz na rurkę ekstrakcyjną.

4. Wyekstrahowana próbka może być przechowywana w temperaturze pokojowej przez 60 minut, co nie będzie miało wpływu na wynik testu.



5. Włożyć zakraplacz na rurkę ekstrakcyjną. Dodać 3 krople (ok. 100 µl) wyekstrahowanej próbki z rurki ekstrakcyjnej do zagłębienia próbki (S) kasety testowej. Włączyć stoper.

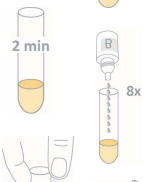
   Unikać wytworzenia się pęcherzyków powietrza w zagłębieniu na próbkę (S) oraz aplikowania roztworu do pola wyników.

   Jeżeli test się rozpocznie, zaobserwować jak kolorowa ciecz wędruje wzdłuż membrany.

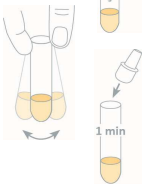
6. Poczekać na pojawienie się kolorowej/owych linii. Wynik interpretować dokładnie po 10 minutach. Po upłynięciu więcej jak 20 minut nie interpretować wyniku.

Dla próbek moczu u mężczyzn:

1. Trzymać buteleczkę bufora ekstrakcyjnego A “extraction buffer A“ pionowo i dodać 8 kropli do moczu w rurce wirówki. Pipetować ciecz w górę i w dół oraz wymieszać ją mocno, aż zawiesina stanie się jednorodna.



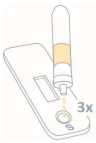
2. Przełożyć cały roztwór z rurki centryfugi do rurki ekstrakcyjnej. Pozostawić na 2 minuty.
3. Trzymać buteleczkę bufora ekstrakcyjnego B “extraction buffer B" pionowo i dodać 8 kropli do rurki ekstrakcyjnej. Odwirować lub stukać spodem rurki, żeby wymieszać roztwór. Pozostawić na jedną minutę.



4. Włożyć zakraplacz do rurki ekstrakcyjnej. Dodać 3 krople (ok. 100 µl) wyekstrahowanej próbki z rurki ekstrakcyjnej do zagłębienia próbki (S) kasety testowej. Włączyć stoper.

   Unikać wytworzenia się pęcherzyków powietrza w zagłębieniu na próbkę (S) oraz aplikowania roztworu do pola wyników.

   Jeżeli test się rozpocznie, zaobserwować jak kolorowa ciecz wędruje wzdłuż membrany.



5. Poczekać na pojawienie się kolorowej/owych linii. Wynik interpretować dokładnie po 10 minutach. Po upłynięciu więcej jak 20 minut nie interpretować wyniku.

10. Interpretacja wyników

Pozytywny

Na membranie pojawią się w kolorowe linie. Jedna linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej (T).

Negatywny

W obszarze linii kontrolnej (C) pojawia się kolorowa linia. W obszarze linii testowej (T) nie pojawia się kolorowa linia.

Nieważny

Linia kontrolna nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone.

Sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

Wskazówka:

Intensywność kolorów w obszarze linii testowych (T) może różnić się, w zależności od stężenia analitów, które zawarte są w próbce. Dlatego każdy odcień w obszarze linii testowych (T)

powinien być traktowany jako pozytywny wynik. Jest to test jakościowy i na jego podstawie nie można określać stężenia analitów w próbce.
Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę:

Pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.
Dobra praktyka laboratoryjna (GLP) zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczania poprawnej wydajności zestawu testowego.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Chlamydia (wymaz/mocz) przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnego diagnostycznego użytku *in-vitro* oraz wyłącznie dla jakościowego oznaczania *C. trachomatis*. Intensywność koloru lub szerokość widocznej linii nie powinny mieć znaczenia diagnostycznego.
- Test nie rozróżnia pomiędzy *C. trachomatis*, *C. pneumonia* lub *C. psittaci*. Test ten nie powinien być stosowany do oznaczania innych *Chlamydii* niż *C. trachomatis*, ponieważ przebadany został wyłącznie opisany materiał próbki z materiałem pacjenta. Z trzech rodzajów Chlamydii, z reguły w układzie moczowo płciowym, pojawia się tylko *C. trachomatis.* Dlatego nie należy oczekiwać, że podczas zastosowania podanego materiału próbki, dojdzie do reakcji krzyżowej z innym rodzajem Chlamydia, który miałby wpływ na wykrywanie *C. trachomatis*. Podczas pozytywnego wyniku, można założyć, że infekcja *C. trachomatis* jest bardzo prawdopodobna.
- Oznaczanie *Chlamydia* zależne jest od ilości bakterii zawartych w próbce. Wynik testu może zostać zniekształcony przez metody pobierania próbki oraz predyspozycje pacjenta takie jak: wiek, wcześniejsze choroby weneryczne (STDs), obecność symptomów itd. Minimalna granica oznaczania może zmieniać się w zależności od serotypu. Jeżeli obciążenie bakteryjne jest za niskie, nie można wykluczyć fałszywie negatywnych wyników.
- Próbki, zawierające duże ilości śluzu lub krwi, mogą prowadzić do fałszywie pozytywnych wyników.
- Jak przy wszystkich testach diagnostycznych, ostateczna diagnoza kliniczna, nie może być oparta na wynikach jednego testu, tylko musi być poddana ocenie lekarza, uwzględniając kolejne kliniczne i laboratoryjne wyniki.

13. Charakterystyka testu

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (próbki wymazu z szyjki macicy u kobiet)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Suma
PCR	+	46	5	51
	–	4	95	99
	Suma	50	100	150

Relatywna czułość: 90,2% (76,9%-96,5%)*
Relatywna swoistość: 96,0% (91,2%-99,4%)*
Ogólna zgodność: 94,0% (89,4%-97,6%)*
*95% przedział ufności

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (próbki wymazu z cewki moczowej u mężczyzn)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Suma
PCR	+	42	12	54
	–	9	105	114
	Suma	51	117	168

Relatywna czułość: 77,8% (66,7%-88,2%)*
Relatywna swoistość: 92,1% (86,4%-96,9%)*
Ogólna zgodność: 93,0% (82,1%-92,3%)*
*95% przedział ufności

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (próbki moczu u mężczyzn)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Suma
PCR	+	25	2	27
	–	2	40	42
	Suma	27	42	69

Relatywna czułość: 92,6% (87,1%-97,4%)*
Relatywna swoistość: 95,2% (90,3%-97,9%)*
Ogólna zgodność: 94,2% (89,5%-97,8%)*
*95% przedział ufności

Granica wykrywalności
Udowodniono, że przeciwciała zawarte w teście NADAL® Chlamydia (wymaz/mocz), wykazują wszystkie piętnaście znanych serotypów *Chlamydia trachomatis*. Dolna granica wykrywalności testów, w zależności od serotypu, może zmieniać się z wartości 1,0 x 10^5 EB/Test do 2,5 x 10^5 EB /Test (EB = Elementary Body)

Reakcje krzyżowe
Patogeny *C. psittaci* i *C. pneumoniae* wykazują reakcję krzyżową z testem, ponieważ struktura LPS zakonserwowana jest przy wszystkich gatunkach *Chlamydia*. Granice oznaczania dla *C. psittaci* und *C. pneumoniae* nie zostały określone.

Reakcje krzyżowe z innymi organizmami zostały przebadane przy zastosowaniu zawiesin o wartości 1,0 x 10^7 organizmów/test. Następujące organizmy wykazały wyniki negatywne po tym, jak zostały przebadane przy pomocy testu NADAL® Chlamydia.

Organizmy	Nr ATTC
Staphylococcus aureus	**12598**
Pseudomonas aeruginosa	**9721**
Enterococcus faecalis	**19433**
Streptokokki Grupy C	**8132**
Klebsiella pneumoniae	**9987**
Branhamella catarrhalis	**25238**
Hemophilus influenzae	**9795**
Candida albicans	**1108**
Neisseria meningitides	**13077**
Neisseria gonorrhoeae	**19424**
Streptokokki Grupy B	**12401**

Organizmy	Nr ATTC
Proteus vulagris	**33420**
Enterococcus faecium	**19000**
Proteus mirabilis	**35659**
Acinetobacter spp	**33305**
Salmonella choleraesius	**51812**
Gardnerella vaginalis	**49145**
Acinetobacter calcoaceticus	**51432**

Interferencje

Badanie interferencyjne wykazały, że wysoka koncentracja świeżej krwi (40 µl/Test) lub mucyny (0,4 mg/Test), może w pewnych przypadkach wykazywać słabe, fałszywie pozytywne wyniki.

Następujące substancje, o stężeniu 10 mg/ml zostały dodane do moczu i przetworzone zgodnie z instrukcją obsługi. Nie wykazały żadnych interferencji podczas powstawania negatywnych ew. pozytywnych wyników z 1,0 x 10^5 EB/Test:

Kwas N-acetylosalicylowy	**Paracetamol**
Kwas askorbinowy	**Ampicylina**
Aspartam	**Kwas benzoesowy**
Kofeina	**Kodeina**
Kortyzon	**Kotynina**
Kreatynina	**EDTA**
Kwas gentyzynowy	**Hydrokortyzon**
Kwas szczawiowy	**Prednizon**
Prokaina	**Chinina**
Tiamina	**Tryptofan D,L**
Mocznik	**Kwas moczowy**

Zróżnicowanie serii śródtestowych i międzytestowych

Nie zaobserwowano żadnych znaczących różnic serii śródtestowych i międzytestowych. Negatywne próbki stale dostarczały wyników negatywnych dla wszystkich oznaczeń (10-cio krotnie) z trzema niezależnymi seriami. Pozytywne próbki z 2,5 x 10^5 lub 1,0 x 10^6 EB/Test wiarygodnie wykazywały wyniki pozytywne.

14. Bibliografia

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbioly 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Nicrobiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 2, 2022-09-20 AM

1. Uso Previsto

O teste NADAL® Chlamydia (esfregaço/urina) é um imunoensaio visual rápido para a detecção presuntiva qualitativa de *Chlamydia trachomatis* em esfregaço cervical feminino, esfregaço uretral masculino e espécimes de urina masculina. Este teste destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico da infecção por *Chlamydia*. O teste NADAL® Chlamydia foi concebido apenas para utilização profissional.

2. Introdução e Significado Clínico

Os géneros *Chlamydia* e *Chlamydophila* incluem, entre outros, três espécies: *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis)*, recentemente reclassificada *Chlamydophila pneumoniae* (*C. pneumoniae*), principalmente associada com seres humanos, bem como *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*), principalmente associada com animais.

C. trachomatis compreende 15 serovares conhecidos e está associado a infecções por tracoma e genito-urinárias. 3 de 15 serovares estão associados com linfogranuloma venéreo (LGV). As infecções por *C. trachomatis* são as doenças bacterianas sexualmente transmissíveis mais comuns. A infecção por *C. trachomatis* caracteriza-se por uma elevada prevalência e uma taxa assintomática de portadores, com complicações graves e frequentes em mulheres e neonatos. Complicações da infecção por *Chlamydia* em mulheres incluem cervicite, uretrite, endometrite, doenças inflamatórias pélvicas (PID) e aumento da incidência de gravidez ectópica e infertilidade. A transmissão vertical da doença durante o parto da mãe para o recém-nascido pode resultar em conjuntivite de inclusão e pneumonia. Nos homens, pelo menos 40% dos casos de uretrite não gonocócica estão associados com infecção por *Chlamydia* e epididimite. Aproximadamente 70% das mulheres com infecções endocervicais e até 50% dos homens com infecções uretrais são sintomáticas.

A infecção por *C. psittaci* está associada a doenças respiratórias em indivíduos expostos a aves infectadas e não é transmitida de humano para humano.

C. pneumoniae, isolada pela primeira vez em 1983, está associada a infecções respiratórias e pneumonia.

Infecção prematura de *Chlamydia* foi diagnosticada pela detecção de inclusões de *Chlamydia* em células de cultura de tecidos. O método de cultura é o método de laboratório mais sensível e específico, mas é trabalhoso, caro, demorado (2-3 dias) e não disponível regularmente na maioria das instituições. Os testes diretos tais como os ensaios de imunofluorescência (IFA) requerem equipamento especializado e um operador especializado para ler o resultado. Hoje, *Chlamydia* é frequentemente detectada por PCR.

3. Princípio do Teste

O teste NADAL® Chlamydia (esfregaço/urina) detecta *Chlamydia trachomatis* através da interpretação visual do desenvolvimento de cor na tira de teste interna. O anticorpo monoclonal de lipopolissacárido específico de antigénio (LPS) é imobilizado na região da linha de teste da membrana. Durante o teste, a amostra reage com outros anticorpos monoclonais anti-*Chlamydia*-LPS conjugados com partículas coloridas e pré-revestidas na almofada conjugada do teste. A mistura migra ao longo da membrana por ação capilar e interage com reagentes na membrana. Se existirem antigénios de *Chlamydia* suficientes na amostra, uma linha colorida irá surgir na região de linha de teste da membrana. A presença desta linha colorida indica um resultado positivo, enquanto a sua ausência indica um resultado negativo.

A formação de uma linha na região da linha de controlo serve para controlo de procedimento, indicando que o volume indicado de amostra foi adicionado e que a membrana ficou corretamente embebida.

4. Reagentes e Material Fornecido

Cada teste consiste numa tira de reagente montada num invólucro de plástico.

A quantidade de *C. Trachomatis* pré-revestido na região da linha de teste é inferior a 0,001 mg, a quantidade de estreptavidina pré-revestida na região da linha de controlo é de cerca de 0,0003 mg. A almofada conjugada contém 0,002 mg de anticorpo *C. Trachomatis* acoplado a partículas de látex vermelho.

- 20 testes cassete NADAL® Chlamydia
- Material adicional fornecido de acordo com 93/42/EEC:
  20 colares cervicais femininos estéreis CE2797

  Puritan Medical Products Company LLC
  31 School Street
  Guilford, Maine 04443-0149 USA (authorised EU representative EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)
- 20 tubos de extração com ponta-conta-gotas
- 1 solução tampão de extracção A (10 ml) contendo 0,2M NaOH

  Aviso
  H315: Provoca irritação da pele
  H319 Provoca irritação grave nos olhos
- 1 solução tampão de extracção B (9 ml) contendo 0,2M HCl
- 1 suporte de tubos
- 1 manual de utilização

5. Material Adicional Necessário

- Para amostras de urina masculina: recipientes de recolha de amostra, pipetas descartáveis, centrifugadora
- Para amostras uretrais masculinas: zaragatoas especiais
- para esfregaços cervicais femininos: zaragatoa adicional ou bola de algodão para remover o muco excessivo
- Cronómetro

6. Conservação & Armazenamento

O teste deverá ser conservado entre 2-30°C até à data de validade impressa na embalagem. O teste cassete deve permanecer na embalagem selada até à sua utilização. Não congelar o kit de teste. Os componentes do kit de teste devem ser cuidadosamente protegidos de contaminação. Não utilizar o de teste se existir evidência de contaminação microbiana ou humidade. Contaminação biológica de equipamentos de distribuição, recipientes ou dos reagentes pode conduzir a falsos resultados.

7. Advertências e Precauções

- Apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*.

- Ler atentamente o manual de utilização antes de realizar o teste.
- Não utilizar o teste após expirada a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilizar os testes ou zaragatoas se a embalagem dos testes estiver danificada.
- Para evitar contaminação cruzada de amostras, não reutilizar os testes. ou tubos de extração.
- Não adicionar amostras à área de reação (área de resultados).
- De modo a evitar uma contaminação, evitar o contacto com a área de reação (área de resultados).
- Não substituir ou misturar componentes de diferentes kits de teste, por ex. conta gotas ou tampas de diferentes frascos de solução tampão.
- Não comer, beber ou fumar na área de manuseamento de amostras e kits de testes.
- Utilizar vestuário de protecção como batas, luvas descartáveis e protecção ocular enquanto manuseando amostras.
- Manusear todas as amostras como potenciais agentes infecciosos. Observar as regulamentações estabelecidas respeitantes a riscos microbiológicos e ao tratamento de resíduos durante todos os procedimentos.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O certificado de origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendado que todos estes produtos sejam tratados como potencialmente infeciosos e manuseados de acordo com as precaução de segurança habituais (e.g., não ingerir ou inalar).
- Solução tampão de extração A e solução tampão de extração B são ligeiramente cáusticas. Evitar contacto com olhos ou membranas mucosas. Em caso de contacto acidental, lavar bem com água.
- Humidade e temperatura podem afetar negativamente os resultados do teste.
- Quando o procedimento do ensaio estiver completo, descartar as zaragatoas cuidadosamente, após tratamento em autoclave a 121°C pelo menos durante 20 minutos. Alternativamente, as zaragatoas podem ser tratadas com hipoclorito de sódio a 0,5% (isto é, lixívia doméstica) durante uma hora antes da eliminação.
- Materiais de testes usados devem ser descartados de acordo com as regulamentações locais.
- Não utilize escovas citológicas com pacientes grávidas.

8. Recolha e Preparação da Amostra

A qualidade dos espécimes obtidos é de extrema importância. A detecção de *Chlamydia* requer uma técnica de colheita vigorosa e completa que forneça material celuloso ao invés de apenas fluidos corporais. **Não** utilizar cloreto de sódio a 0,9% para tratar zaragatoas antes da recolha dos espécimens.

Para colheita de amostras de esfregaços cervicais femininos:

- Utilizar apenas a zaragatoa fornecida com o kit de teste.
- Antes da colheita da amostra, retire o excesso de muco da área endocervical com uma zaragatoa separada ou uma bola de algodão e descarte-a.
- A zaragatoa deve ser inserida no canal endocervical, passando pela junção escamocolunar, até que a maior parte da ponta não seja mais visível. Isto permitirá a aquisição de células epiteliais colunares ou cubóides, que são o principal reservatório de bactérias *Chlamydia*.
- Girar firmemente a zaragatoa por 15-20 segundos e depois retirá-la. Evitar a contaminação com células exocervicais ou vaginais.
- Se o cotonete for testado imediatamente, insira-o no tubo de extração.

Para colheita de amostras de esfregaços uretrais masculinos:

- Para a colheita de amostras uretrais, devem ser utilizados esfregaços com ponta de fibra ou pincéis citológicos (não fornecidos). Instruir os pacientes a não urinar pelo menos uma hora antes da colheita da amostra.
- Inserir o cotonete na uretra cerca de 2-4 cm, girar por 3-5 segundos e retirar.
- Se o cotonete for testado imediatamente, insira-o no tubo de extração.

Para colheita de amostras de urina masculina:

- Recolher 15-30 mL de urina limpa, primeira urina da manhã em um recipiente de amostra de urina estéril. É preferível utilizar a primeiras amostra de urina da manhã de modo a obter as concentrações mais elevadas de antigénios de *Chlamydia*.
- Misture a amostra de urina, invertendo o recipiente. Transferir 10 mL da amostra de urina para um tubo de centrifugação, adicionar 10 mL de água destilada e centrifugar a suspensão a 3.000 rpm durante 15 minutos.
- Mantendo o tubo invertido, descarte cuidadosamente o sobrenadante. Remova qualquer sobrenadante da borda do tubo com papel absorvente.
- Se o teste for realizado imediatamente, tratar o resto de urina de acordo com a secção 9 "Procedimento do teste".

Não coloque uma zaragatoa em qualquer dispositivo de transporte que contenha meio de transporte. O meio de transporte interfere com o ensaio. A viabilidade das bactérias não é necessária para o ensaio. Se não for possível iniciar o teste imediatamente, as amostras do paciente devem ser colocadas, num tubo de transporte seco para armazenamento ou transporte. Esfregaços podem ser armazenados a temperatura ambiente (15-30°C) até 4 horas ou refrigerados (2-8°C) até 24 horas. Amostras de urina podem ser armazenadas refrigeradas (2-8°C) até 24 horas. Não congelar amostras. Todas as amostras devem estar à temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar o teste.

9. Procedimento do Teste

Os testes, amostras, reagentes e/ou controlos devem estra à temperatura ambiente (15–30°C) antes da sua utilização.

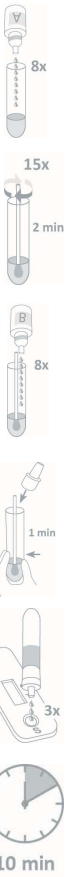
- Retirar o teste NADAL® Chlamydia da embalagem selada e utilizá-lo o mais rapidamente possível. Os melhores resultados serão obtidos se o teste for realizado imediatamente após a abertura da embalagem.
- Extrair os antigénios *Chlamydia* de acordo com o tipo de amostra.

Para amostras de esfregaço cervical ou uretral:

1. Colocar um tubo de extração limpo no suporte de tubos. Segurando o frasco com

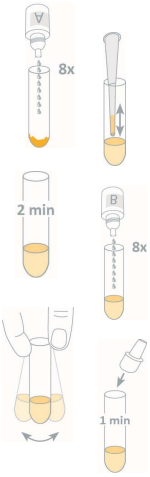
solução tampão de extração A verticalmente, adicionar 8 gotas no tubo de extração.

2. Inserir a zaragatoa do paciente no tubo de extração e aguarde 2 minutos. Enquanto isso, gire o cotonete, usando um movimento circular, e pressione-o contra os lados do tubo de extração, de forma que o líquido seja espremido da zaragatoa e possa reabsorver. Repetir este processo 15x.
3. Segurando o frasco com o tampão de extração B verticalmente, adicione 8 gotas. Misturar os líquidos com a zaragatoa. Apertar o cotonete firmemente contra os lados do tubo de extração por 1 minuto para expelir o máximo de líquido possível da zaragatoa. Descartar a zaragatoa seguindo as directrizes para manuseamento de agentes infecciosos. Coloque a ponta do conta-gotas no tubo de extração.
4. A amostra extraída pode ser mantida à temperatura ambiente durante 60 minutos sem afectar o resultado do teste.
5. Adicionar 3 gotas (aproximadamente 100 µl) da amostra estraída do tudo de extração para o orifício (S) do teste cassete. Iniciar o cronómetro.
   Evitar bolhas de ar no poço de amostra (S) e não adicionar qualquer solução na área de reacção (área de resultado).
   Quando o teste começar a funcionar, a cor migrará ao longo da membrana.
6. Esperar pelo aparecimento da(s) linha(s) colorida(s). O resultado deve ser interpretado após 10 minutos. Não interpretar os resultados após decorridos mais de 20 minutos.



Para amostras de urina masculinas:

1. Segurando o frasco com solução tampão de extração A verticalmente, adicionar 8 gotas na urina restante no tubo de centrifugação. Em seguida, mexer o líquido para cima e para baixo com uma pipeta para misturá-lo vigorosamente até que a suspensão seja homogénea.
2. Transferir a solução completa do tubo de centrifugação para um tubo de extracção. Deixar repousar durante 2 minutos.
3. Segurando o frasco com solução tampão de extração B verticalmente, adicionar 8 gotas no tubo de extração. Mexer em vórtice ou tocar o fundo do tubo para misturar a solução. Deixar repousar durante 1 minuto.



4. Colocar a ponta do conta-gotas no tubo de extração. Adicionar 3 gotas (aproximadamente 100 µl) da amostra estraída do tudo de extração para o orifício (S) do teste cassete. Iniciar o cronómetro.
   Evitar bolhas de ar no poço de amostra (S) e não adicionar qualquer solução na área de reacção (área de resultado).
   Quando o teste começar a funcionar, a cor migrará ao longo da membrana.
5. Esperar pelo aparecimento da(s) linha(s) colorida(s). O resultado deve ser interpretado após 10 minutos. Não interpretar os resultados após decorridos mais de 20 minutos.

10. Interpretação dos Resultados

Positivo:
Surgem duas linhas coloridas na membrana. Uma linha surge na região da linha de controlo (C), outra linha surge na região da linha de teste (T).

Negativo:
Uma linha colorida surge na região da linha de controlo (C). Nenhuma colorida surge da região da linha de teste (T).

Inválido:
Não surge a linha de controlo. Resultados de qualquer teste no qual não tenha surgido uma linha de controlo no tempo especificado deverão ser desconsiderados. Por favor, rever o procedimento e repetir o teste com um novo teste cassete. Se o problema persistir, interromper a utilização do kit imediatamente e contactar o distribuidor.

Nota:
A intensidade da cor na região da linha de teste (T) pode variar, dependendo da concentração do analito presente na amostra. Qualquer sombra de cor na zona da linha de teste deve ser considerada positivo. Por favor tenha atenção que este é apenas um teste qualitativo não podendo determinar a concentração de substâncias na amostra.

As razões mais prováveis para um resultado inválido são um volume insuficiente da amostra, erros processuais ou testes expirados.

11. Controlo de qualidade

Um controlo interno de procedimento encontra-se incluído no teste cassete:

A linha colorida que surge na região da linha de controlo (C), é considerada um controlo interno de procedimento. Isto confirma um volume de amostra suficiente, uma saturação de membrana adequada e o procedimento técnico correto.

As *Boas Práticas Laboratoriais (GLP)* recomendam a utilização de materiais de controlo para garantir um desempenho do teste apropriado.

12. Limitações

- O teste NADAL® Chlamydia (zaragatoa/urina) é apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro* e deve ser usado apenas para a detecção qualitativa do *C. trachomatis*. Nenhum significado deve ser inferido da intensidade da cor ou da largura de todas as linhas aparentes.
- O teste não diferencia entre *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* ou *C. psittaci*. No entanto, não deve ser utilizado para a detecção de outras *Chlamydia* do que *C. trachomatis*, uma vez que apenas o material da amostra descrito foi testado com o material do paciente. Das três espécies de *Chlamydia*, usualmente apenas *C. trachomatis* está presente no tracto urogenital. Por esta razão, se o material de amostra pretendido for utilizado, não é de esperar um reacção cruzada com outras especificações de *Chlamydia* que pudessem influenciar a detecção de *C. trachomatis*. Um resultado positivo indica uma provável infecção com *C. trachomatis*.
- A detecção de *Chlamydia* depende do número de bactérias presentes na amostra. Isto pode ser afetado por métodos de colheita de amostras e fatores do paciente como idade, historial de DST, presença de sintomas, etc. Especialmente em infecções crónicas sem sintomas claros, o número de patogénicos pode ser baixo. O nível mínimo de detecção deste teste pode variar de acordo com o serovar. Se a carga bacteriana é muito baixa na amostra, os resultados falsos negativos não podem ser excluídos.
- Amostras com alta quantidade de muco ou sangue podem causar resultados positivos falsos.
- Um diagnóstico clínico definitivo não deve basear-se apenas nos resultados de um único teste rápido, mas deve apenas ser realizado pelo médico após todas as análises clínicas e laboratoriais serem avaliadas.

13. Características de Desempenho

Teste NADAL® Chlamydia vs PCR (esfregaço cervical feminino)

		teste NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	46	5	51
	–	4	95	99
	Total	50	100	150

Sensibilidade relativa: 90,2% (76,9%-96,5%)*
Especificidade relativa: 96,0% (91,2%-99,4%)*
Concordância: 94,0% (89,4%-97,6%)*

*95% Intervalo de confiança

Teste NADAL® Chlamydia vs PCR (esfregaço uretal masculino)

		teste NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	42	12	54
	–	9	105	114
	Total	51	117	168

Sensibilidade relativa: 77,8% (66,7%-88,2%)*
Especificidade relativa: 92,1% (86,4%-96,9%)*
Concordância: 93,0% (82,1%-92,3%)*

*95% Intervalo de confiança

Teste NADAL® Chlamydia vs PCR (amostra de urina masculina)

		teste NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	25	2	27
	–	2	40	42
	Total	27	42	69

Sensibilidade relativa: 92,6% (87,1%-97,4%)*
Especificidade relativa: 95,2% (90,3%-97,9%)*
Concordância: 94,2% (89,5%-97,8%)*

*95% Intervalo de confiança

Limite de deteção

Demonstrou-se que os anticorpos utilizados no teste NADAL® Chlamydia (esfregaço/urina) detectam todos os 15 serovares conhecidos de *Chlamydia trachomatis*. O nível mínimo de detecção deste teste pode variar de acordo com o serovar de 1,0 x 10^5 EB/teste para 2,5 x 10^5 EB/teste (EB = corpo elementar).

Reação Cruzada

Os agentes patogénicos *C. psittaci* e *C. pneumoniae* mostram uma reactividade cruzada com o teste porque a estrutura LPS é conservada entre todas as espécies de *Chlamydia.* Os limites de detecção de *C. psittaci* e *C. pneumoniae* não foram determinados.

A reatividade cruzada com outros organismos foi estudada utilizando suspensões de 1,0 x 10^7 organismos/teste. Os seguintes organismos mostraram resultados negativos quando testados com o teste NADAL® Chlamydia (esfregaço/urina):

Organismos	No. ATCC
Staphylococcus aureus	**12598**
Pseudomonas aeruginosa	**9721**
Enterococcus faecalis	**19433**
Grupo C *Streptococcus*	**8132**
Klebsiella pneumoniae	**9987**
Branhamella catarrhalis	**25238**
Haemophilus influenzae	**9795**
Candida albicans	**1108**
Neisseria meningitides	**13077**
Neisseria gonorrhoeae	**19424**
Grupo B *Streptococcus*	**12401**
Proteus vulgaris	**33420**
Enterococcus faecium	**19000**
Proteus mirabilis	**35659**
Acinetobacter spp	**33305**
Salmonella choleraesius	**51812**
Gardnerella vaginalis	**49145**
Acinetobacter calcoaceticus	**51432**

Interferência

Um estudo de interferência mostrou que altas concentrações de sangue fresco (40 µl/teste) ou mucina (0,4 mg/teste) podem causar resultados fracos de falsos positivos em alguns casos.

As seguintes substâncias foram introduzidas na urina a 10 mg/ml e processadas de acordo com o folheto informativo. Eles não mostraram qualquer interferência na formação de resultados negativos e positivos com 1 x 10^5 EB/teste:

N-Ácido acetilsalicílico	**Acetaminofeno**
Ácido ascórbico	**Ampicilina**
Aspartame	**ácido benzóico**
Cafeína	**Codeína**
cortisona	**Cotinina**
Creatinina	**EDTA**
Ácido gentísico	**Hidrocortisona**
Ácido oxálico	**Prednisona**
Procaína	**Quinina**
Tiamina	**D, L Triptofano**
Ureia	**Ácido úrico**

Variabilidade entre inter-lotes e intra-lotes

Não foi observada variabilidade significativa entre inter-lotes ou intra-lotes. As amostras negativas apresentaram consistentemente resultados negativos para todas as determinações (10 vezes) com três lotes independentes. Amostras positivas com 2,5 x 10^5 ou 1,0 x 10^6 EB/teste confiável apresentaram resultados positivos.

14. Referências

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbioly 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Nicrobiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 2, 2022-09-20 AL

Test NADAL® Chlamydia (Ref. 212007)

1. Použití

Test NADAL® Chlamydia (výtěr/moč) je rychlý imunochromatografický test pro kvalitativní detekci *Chlamydie trachomatis* z cervikálního výtěru u žen a výtěru močové trubice, či moči u mužů. Tento test je určen jako pomoc při určení diagnózy chlamydické infekce. Test NADAL® Chlamydia je určen pouze pro profesionální použití.

2. Úvod

Rody *Chlamydia* a *Chlamydophila* zahrnují, mimo jiné, tři druhy: *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis),* nedávno překlasifikovaná *Chlamydia pneumoniae (C. pneumoniae)*, primárně spojená s lidmi, stejně tak jako *Chlamydia psittaci (C. psittaci)*, která se primárně spojuje se zvířaty.

Chlamydia trachomatis zahrnuje 15 známých sérotypů a je spojena s trachomem a urogenitálních infekcí. 3 z 15 serotypů jsou spojeny s venerickým lymfogranulomem (LGV). *Infekce chlamydie trachomatis* je nejvíce rozšířenou pohlavně přenosnou chorobou. Infekce *Chlamydie trachomatis* je charakterizována jak vysokým výskytem, tak asymptomatickou mírou přenosu s často vážnými komplikacemi u žen a novorozenců. Komplikace *chlamydické* infekce u žen zahrnují cervicitidu, uretritidu, endometritidu, pánevní zánětlivé onemocnění (PID) a zvýšený výskyt mimoděložních těhotenství a neplodnosti. Přenos onemocnění během porodu z matky na novorozence může vést k inkluzní konjuktivitě a zápalu plic. Nejméně 40% všech případů negonokokové uretritidy u mužů je spojeno s infekcí *chlamydie* a epididymitidy. Přibližně 70% žen s endocervikálního infekcí a až do 50% mužů s infekcí močové trubice je symptomatických.

Chlamydie psittaci je spojena s respiračními onemocněními u osob, které přišly do styku s infikovanými ptáky a nepřenáší se z člověka na člověka.

Chlymydia pneumoniae, poprvé izolována v roce 1983, je spojena s infekcí dýchacích cest a plic.

Dříve byla infekce *chlamydie* diagnostikována detekcí vměstků *chlamydie* v buňkách tkáňové kultury. Kultivační metoda má nejvyšší citlivost a specificitu ze všech laboratorních metod, avšak je náročná, drahá, zdlouhavá (2-3 dny) a ve většině institucí není běžně dostupná. Přímé testy, jako imunofluorescenčních testy (IFA) vyžadují specializované vybavení a kvalifikovanou obsluhu k odečtení výsledku. Dnes je *Chlamydia* často detekována pomocí PCR.

3. Princip testu

Test NADAL® Chlamydia (výtěr/moč) detekuje *Chlamydii trachomatis* vizuální interpretací zbarvení na testovacím proužku. Specifická lipopolysacharidová (LPS) monoklonální protilátka je imobilizována na testovací linii v oblasti membrány. Během testování vzorek reaguje s ostatními monoklonálními anti-*Chlamydia*-LPS protilátkami konjugovanými na barevné částice, které byly předem nanesené na konjugační plochu testu. Směs pak putuje membránou pomocí kapilárních sil a reaguje s reagenciemi na membráně. Pokud je ve vzorku přítomno dostatečné množství antigenu *Chlamydie*, v testové oblasti membrány se objeví barevná linie. Zobrazení této barevné linie znamená pozitivní výsledek, zatímco její nezobrazení znamená výsledek negativní.

Zobrazení barevné linie v oblasti kontrolní linie slouží jako procedurální kontrola a znamená, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku a potvrzuje správnou funkci membrány.

4. Reagencie a poskytovaný materiál

Každý test se skládá z reagenčního proužku, který je uložen uvnitř plastového pouzdra.

Množství protilátky *Chlamidie trachomatis* předem nanesené v oblasti testovací line je menší než 0.001 mg, množství streptavidinu naneseného v oblasti kontrolní linie je okolo 0.0003 mg. Konjugační plocha obsahuje 0.002 mg protilátky *Chlamydie trachomatis* seskupených do červených latexových částeček.

- 20 NADAL® Chlamydia testovacích kazeta
- Další poskytnutý materiál podle 93/42/EEC:
  20 sterilních tamponů CE2797 pro cervikální výtěr.
  Puritan Medical Products Company LLC
  31 School Street
  Guilford, Maine 04443-0149 USA (autorizovaný EU zástupce EMERGO EUROPE, Hague, Nizozemsko)
- 20 extrakčních trubiček s kapátkem
- 1 extrakční pufr A „extraction buffer A" (10 ml) obsahující 0.2M NaOH
  Upozornění
  H315: Způsobuje podráždění kůže
  H319 Způsobuje Vážné podráždění očí
- 1 extrakční pufr B „extraction buffer B" (9 ml) obsahující 0.2M HCl
- 1 držák na trubičku
- 1 návod k použití

5. Další potřebný materiál

- Pro vzorky mužské moče. Nádoby pro odběr vzorků, jednorázové pipety, centrifuga
- Pro vzorky výtěru z mužské močové trubice: speciální tampóny
- Pro cervikální výtěr: Dodatečný tampon nebo bavlněná kulička k odstranění nadměrného množství hlenu.
- Stopky

6. Skladování a trvanlivost

Testovací souprava by měla být skladována při teplotě 2-30°C a použita před uplynutím expirační doby vyznačené na obalu. Testovací kazeta by měla zůstat v uzavřené ochranné fólii, dokud nebude použita. Testovací soupravu nezmrazujte. Součásti sady je potřeba chránit před kontaminací. Test nepoužívejte, pokud došlo k mikrobiální kontaminaci nebo sraženinám. Biologická kontaminace kapátek, nádob nebo reagencií může vést k nesprávným výsledkům.

7. Bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.
- Test nepoužívejte po uplynutí expirační doby vyznačené na obalu.
- Test ani tampóny nepoužívejte, je-li ochranná fólie poškozená.
- Abyste se vyhnuli křížové kontaminaci vzorku, nepoužívejte znovu test ani extrakční trubičky.

- Nenanášejte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční oblasti (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Nezaměňujte ani nemíchejte komponenty z různých testovacích sad, např. kapátka nebo víčka z různých lahviček s extrakčním pufrem.
- V místě provádění testu nejezte, nepijte ani nekuřte.
- V průběhu testování vzorků používejte ochranný oděv jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle.
- Se všemi vzorky zacházejte tak, jako by byly infekční. Dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik v průběhu celého procesu a rovněž předpisy pro likvidaci vzorků.
- Testovací kit obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo sanitárního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Proto se doporučuje, aby tyto výrobky byly považovány za potenciálně infekční, a bylo s nimi nakládáno v souladu s obvyklými bezpečnostními opatřeními (např. nepolykat či nevdechovat).
- Extrakční pufr A a extrakční pufr B jsou lehce žíravé. Zabraňte kontaktu s očima a sliznicemi. V případě kontaktu důkladně opláchněte vodou.
- Vlhkost a extrémní teplota mohou nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Jakmile je testovací procedura ukončena. Opatrně zlikvidujte tampony, poté co byly autoklávovány při teplotě 121°C po dobu alespoň 20 minut. Tampony mohou být případně ošetřeny 0,5% chlornanem sodným (např. domácí bělidlo) hodinu před likvidací.
- Použité testovací materiály by měly být zlikvidovány v souladu s místními předpisy.
- U těhotných pacientek nepoužívejte cytologické kartáčky.

8. Odběr vzorku a příprava.

Kvalita odebraného vzorku je velice důležitá. Detekce *Chlamydie* vyžaduje intenzivní a důkladnou techniku odebrání vzorků, která poskytne buněčný materiál a ne jen tělní tekutiny. **Neošetřujte** tampony 0,9% roztokem chloridu sodného před odebráním vzorků.

Pro odběr vzorku z cervikálního výtěru:

- Použijte tampon dodávaný s testovací sadou.
- Před odběrem vzorku, odstraňte přebytečný hlen z endocervikální oblasti pomocí samostatného tampónu nebo bavlněnou kuličkou a vyhoďte jej.
- Tampon by měl být vložen do endocervikálního kanálu, kolem squamokolumnární junkce tak daleko, až už nebude vidět většina špičky. To umožní získání trámčitých nebo retikulárních epiteliálních buněk, které jsou hlavním zásobníkem bakterií *Chlamydia*.
- Otáčejte tampón 15-20 sekund a poté jej vyjměte. Zabraňte kontaminaci exocervikálními nebo vaginálními buňkami.
- Pokud musí být tampón testován okamžitě, vložte jej do extrakční zkumavky.

Pro sběr vzorku z mužké močové trubice:

- Pro odebrání vzorku z močové trubice by měl být použit standardní vatové tyčinky nebo cytologické kartáčky. Poučte pacienty, aby nemočili alespoň jednu hodinu před odběrem vzorku.
- Vložte tampon do močové trubice 2-4 cm hluboko, otáčejte s ním 3-5 sekund a poté jej vytáhněte.
- Pokud má být tampon ihned otestován, vložte jej do extrakční trubičky.

Pro odebrání vzorku mužské moče:

- Odeberte 15-30 ml čisté ranní moče do sterilní nádoby na moč. První ranní moč je vhodnější, neboť poskytuje nejvyšší koncentraci antigenů *Chlamydie*.
- Zamíchejte vzorek moči otočením nádoby. Přelijte 10 ml vzorku moči do centrifugační zkumavky, přidejte 10 ml destilované vody a odstřeďujte suspenzi při 3 000 otáčkách za minutu po dobu 15 minut.
- Zkumavku otočte a opatrně vylijte supertanant. Otřete veškerý supernatantu z okraje zkumavky pomocí absorpčního papíru.
- Pokud má být test proveden ihned, zacházejte s močí tak, jak je popsáno v sekci 9 "Provedení testu"

Nevkládejte tampon do žádné zkumavky obsahující transportní médium. Transportní médium narušuje test. Životaschopnost bakterií není potřebná pro provedení testu. Pokud okamžité testování není možné, vzorky pacientů by měly být umístěny v suché transportní zkumavce, aby mohly být skladovány nebo přepraveny. Tampony mohou být skladovány při pokojové teplotě (15-30°C) po dobu 4 hodin, nebo v chladničce (2-8°C) po dobu 24 hodin. Vzorky moči lze uchovávat v chladničce (2-8°C) po dobu 24 hodin. Vzorky nezmrazujte. Všechny vzorky by měly být před testováním přivedeny na pokojovou teplotu (15-30°C).

9. Provedení testu

Před testováním přiveďte testy, reagencie, vzorky a/nebo kontroly na pokojovou teplotu (15-30°C).

- Vyjměte NADAL® Chlamydia testovací kazetu z ochranné fólie a použijte ji co nejdříve. Nejlepších výsledků bude dosaženo, pokud bude test proveden ihned po otevření ochranné fólie.
- Extrahujte antigeny *Chlamidie* podle typu vzorku.

Pro vzorky získané cervikálním výtěrem nebo výtěrem z močové trubice:

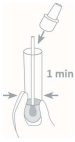
1. Umístěte čisté extrakční trubičky do držáku. Lahvičku s extrakčním pufrem držte svisle a přidejte 8 kapek do extrakční trubičky.

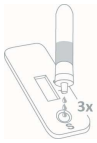
2. Tampon od pacienta vložte do extrakční trubičky a vyčkejte 2 minuty. Mezitím, otáčejte tampónem a přitlačte jej na stěnu extrakční trubičky tak, aby se tekutina vymáčkla z tamponu a mohla být znovu absorbována. Tento proces opakujte 15x.

3. Lahvičku s extrakčním pufrem B držte svisle a přidejte 8 kapek. Tekutinu promíchejte s výtěrem. Po 1 minutu tlačte tampon pevně ke stěně extrakční trubičky, aby se z tamponu uvolnilo co nejvíce tekutiny. Tampon vyhoďte a dodržujte přitom předpisy pro manipulaci s infekčními materiály.

Test NADAL® Chlamydia (Ref. 212007)

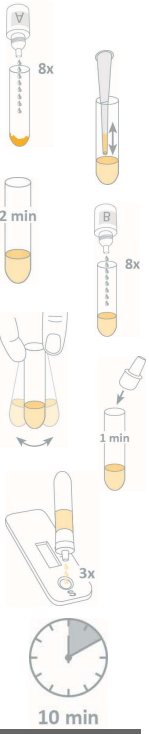
4. Extrahované vzorky mohou být uchovány při pokojové teplotě po dobu 60 minut bez toho, aby byl ovlivněn výsledek testu.
5. Připevněte kapátko na extrakční trubičku. Nakapejte 3 kapky (asi 100 µL) extrahovaného vzorku z extrakční trubičky do jamky na vzorek (S) na testovací kazetě. Spusťte stopky.
   Zabraňte vzniku vzduchových bublin v jamce na vzorek (S) a nepřidávejte žádné roztoky do reakční oblasti (výsledková oblast).
   Jakmile test začne fungovat, barva poputuje podél membrány.
6. Vyčkejte, až se zobrazí barevná/barevné linie. Výsledek by měl být odečten po 10 minutách. Výsledky neodečítejte po více než 20 minutách.





Pro vzorek mužské moči:

1. Držte lahvičku s extrakčním pufrem A svisle a přidejte 8 kapek do moči v centrifugační zkumavce. Pak nasajte kapalinu pipetou a znovu ji vypusťte do zkumavky, aby se důkladně promíchala a opakujte, dokud není suspenze homogenní.
2. Přelijte všechen roztok z centrifugy do extrakční trubičky a nechte jej stát 2 minuty.
3. Držte lahvičku s extrakčním pufrem B svisle a přidejte 8 kapek do extrakční trubičky. Zavřete s ní nebo poklepejte na dno trubičky, aby se roztok promíchal. Nechte ji stát 1 minutu.
4. Připevněte kapátko na extrakční trubičku. Přidejte 3 kapky (asi 100 µL) extrahovaného vzorku z extrakční trubičky do jamky na vzorek (S) na testovací kazetě. Spusťte stopky.
   Zabraňte vzniku vzduchových bublin v jamce na vzorek (S) a nepřidávejte žádný roztok do reakční oblasti (výsledková oblast).
   Jakmile test začne fungovat, barva poputuje podél membrány.
5. Vyčkejte, až se zobrazí barevná/barevné linie. Výsledek by měl být odečten po 10 minutách. Výsledky neodečítejte po více než 20 minutách.



10. Vyhodnocení výsledků

Pozitivní:
Na membráně se zobrazí dvě barevné linie. Linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá linie se zobrazí v oblasti testovací linie (T).

Negativní:
Zobrazí se pouze jedna barevná linie oblasti kontrolní linie (C). V oblasti testovací linie (T) se neobjeví žádná barevná linie.

Neplatný:
Kontrolní linie se neobjeví. Výsledky z jakéhokoliv testu, na kterém se neutvořila kontrolní linie v určeném čase, nesmí být použity. Prosíme, zkontrolujte postup a test zopakujte s novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvá, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.

Poznámka:
Intenzita barvy v oblasti tetovací linie (T) se může lišit v závislosti na koncentraci analytu ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti testovací linie linie by proto měl být považován za pozitivní výsledek. Berte na vědomí, že se jedná pouze o kvalitativní test, který neurčuje koncentraci analytu ve vzorku.

Nedostatečné množství vzorku, nesprávný postup při testování nebo prošlý test jsou nejčastějšími příčinami nezobrazení kontrolní linie.

11. Kontrola kvality

Interní procedurální kontrola je zahrnuta v testovací kazetě:

Barevná linie, která se objeví v oblasti kontrolní linie (C) je považována za interní, procedurální kontrolu. Potvrzuje, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku, že membrána funguje správě a že byl dodržen správný postup při testování.

Good laboratory practice (GLP) doporučuje použití kontrol k ověření správně funkčnosti testu.

12. Omezení

- NADAL® Chlamydia test (výtěr/moč) je určen pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostické použití a měly by být používán pouze pro kvalitativní detekci *Chlamydie trachomatis*. Intenzita barevné linie, ani její šířka, nemá žádný vliv na výsledek testu.
- Test nerozlišuje mezi *Chlamydií trachomatis*, *Chlamydií pneumonia* nebo *Chlamydií psittaci*. Nicméně by neměl být používán k detekci jiné *Chlamydie* než *Chlamydie trachomatis,* Neboť pouze v tomto případě byl materiál testován se vzorkem od pacienta. Ze tří druhů bakterií *Chlamydia* se v urogenitálním traktu vyskytuje zpravidla pouze *C. trachomatis*. Neočekává se tudíž, že by za použití uvedeného vzorkového materiálu mohlo dojít ke křížové reakci s jinou *Chlamidia spec.*, která by mohla ovlivnit detekci *C. trachomatis.* Pozitivní výsledek testu tedy s největší pravděpodobností poukazuje na infekci vyvolanou *C. trachomatis*.
- Detekce *Chlamydie* záleží na počtu bakterií přítomných ve vzorku. Toto může být ovlivněno metodou odebrání vzorku a dalšími faktory jako věk pacienta, jeho historie sexuálně přenosných chorob, přítomnost symptomů atd. Minimální detekční úroveň testu se může lišit v závislosti na sérotypu. V případě že je bakteriální zátěž velice nízká, není možné vyloučit falešně negativní výsledek.

- Vzorky, které obsahují vysoké množství hlenu nebo krve, mohou způsobit falešně pozitivní výsledek.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by konečná diagnóza neměla být založena na výsledku jednoho testu, ale měla by být stanovena lékařem po zvážení všech klinických i laboratorních nálezů.

13. Výkonnostní charakteristiky

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (vzorky cervikálního výtěru)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Total
PCR	+	46	5	51
	–	4	95	99
	Total	50	100	150

Senzitivita 90,2% (76,9%-96,5%)*
Specifita 96,0% (91,2%-99,4%)*
Celková shoda 94,0% (89,4%-97,6%)*

*95% Interval spolehlivosti

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (vzorky výtěru mužské močové trubice)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Celkem
PCR	+	42	12	54
	–	9	105	114
	Celkem	51	117	168

Senzitivita 77,8% (66,7%-88,2%)*
Specifita 92,1% (86,4%-96,9%)*
Celková shoda 93,0% (82,1%-92,3%)*

*95% Interval spolehlivosti

Test NADAL® Chlamydia vs PCR (vzorek mužské moče)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	–	Celkem
PCR	+	25	2	27
	–	2	40	42
	Celkem	27	42	69

Senzitivita 92,6% (87,1%-97,4%)*
Specifita 95,2% (90,3%-97,9%)*
Celková shoda 94,2% (89,5%-97,8%)*

*95% Interval spolehlivosti

Detekční limit

Bylo prokázáno, že protilátky použité v testu NADAL® Chlamydia (výtěr/moč), detekují všech 15 známých sérotypů *Chlamydie trachomatis*. Minimální detekční úroveň tohoto testu se může lišit v závislosti na sérotypu od 1,0 x 10^5 EB/test, 2,5 x 10^5 EB/test (EB = elementary body - elementární tělísko).

Křížová reaktivita

Patogeny *Chlamydie psittaci* a *Chlamydie pneumoniae* vykazují v testu křížovou reaktivitu, neboť struktura LPS je zachovaná mezi všemi *druhy* chlamydie. Detekční limit pro *Chlamydii psittaci* a *Chlamydii pneumoniae* nebyl stanoven.

Křížová reaktivita s jinými organismy byla studována s použitím suspenze 1,0 x 10^7 organismů/test. Následující organismy vykazovaly v testu NADAL® Chlamydia (výtěr/moč) negativní výsledky:

Organismy	ATCC No.
Staphylococcus aureus	**12598**
Pseudomonas aeruginosa	**9721**
Enterococcus faecalis	**19433**
Streptococcus skupiny C	**8132**
Klebsiella pneumoniae	**9987**
Branhamella catarrhalis	**25238**
Hemophilus influenzae	**9795**
Candida albicans	**1108**
Neisseria meningitides	**13077**
Neisseria gonorrhoeae	**19424**
Streptococcus skupiny B	**12401**
Proteus vulagris	**33420**
Enterococcus faecium	**19000**
Proteus mirabilis	**35659**
Acinetobacter spp	**33305**
Salmonella choleraesius	**51812**
Gardnerella vaginalis	**49145**
Acinetobacter calcoaceticus	**51432**

Interference

Studie prokázala, že vysoká koncentrace čerstvé krve (40 µl/test) nebo hlenu (0,4 mg/test), může v některých případech způsobit falešně pozitivní výsledky.

Následující látky byly přidány do moči v koncentraci 10 mg/ml, a ta byla poté testována podle příbalového letáku. Tyto látky neprokázali žádnou interferenci se zobrazením negativních či pozitivních výsledků, 1 x10^5 EB/test:

Kyselina N-acetylsalicylová	**Acetaminophen**
Kyselina askorbová	**Ampicillin**
Aspartam	**Kyselina benzoová**
Kofein	**Kodein**
Kortizon	**Kotinin**
Kreatinin	**EDTA**
Kyselina gentisová	**Hydrokortison**
Oxalic acid	**Prednison**
Prokain	**Chinin**
Thiamin	**D, L Tryptofan**
Močovina	**Kyselina močová**

Inter-lot a intra-lot variabilita

Nebyla pozorována žádná významaná inter-lot a intra-lot variabilita. Negativní vzorky vykázaly negativní výsledky ve všech případech (10x) s třemi nezávislými šaržemi. Pozitivní vzorky s 2,5 x 10^5 nebo 1,0 x 10^6 EB/test spolehlivě ukázal pozitivní výsledky.

14. Reference

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbioly 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Nicrobiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 2, 2022-09-20 TF

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
CE	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
IVD	*in-vitro*-Diagnostika	*in-vitro* diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic *in-vitro*	Producto sanitario para diagnóstico *in-vitro*	Dispositivo medico-diagnostico *in-vitro*	Tylko do diagnostyki *in-vitro*
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
LOT	Chargenbezeichnung	Batch code	Numéro de lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
REF	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
Σ	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
CE	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning nøye
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in-vitro*	Diagnostický zdravotnický prostředek *in-vitro*	*in-vitro* -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för *in-vitro*-diagnostik	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek	Medicinsk udstyr til *in-vitro*-diagnostik	*in-vitro* diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperatur-begränsning	Temperatuurlimiet	Temperatur-begrænsning	Temperatur begrensning
LOT	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode	Merking
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebujte do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
REF	Número de catálogo	Katalogov éčíslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il l ingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
Σ	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrekkelig for<n> tester

Our Teams

Germany:
Regensburg
Tel: +49 941 290 10-0
Fax: +49 941 290 10-50

Moers
Tel: +49 2841 99820-0
Fax: +49 2841 99820-1

Austria:
Tel: +49 941 290 10-29
Free Tel: 0800 291 565
Fax: +49 290 10-50
Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:
Tel: +49 941 290 10-18
Free Tel –UK: 0808 234 1237
Free Tel – IRE: 1800 555 080
Fax: +49 290 10-50

France:
France Tel: 0800 915 240
France Fax: 0800 909 493

Switzerland
Swiss Tel: 0800 564 720
Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium
Belgium Tel: 0800 718 82
Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg
Lux. Tel: 800 211 16
Lux. Fax: 800 261 79

Spain:
Tel: +49 941 290 10-759
Free Tel: 900 938 315
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 900 984 992

Italy:
Tel: +49 941 290 10-34
Fax: +49 941 290 10-50

Poland:
Tel: +49 941 290 10-44
Free Tel: 00 800 491 15 95
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:
Tel: +49 941 290 10-735
Tel. Verde: 800 849 230
Fax: +49 941 290 10-50
Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:
Tel: +31 30 75 600
Free Tel: 0800 0222 890
Fax: +31 70 30 30 775
Free Fax 0800 024 9519

Nordic countries (Finland, Norway, Sweden, Denmark):
Tel: +31 703075 607
Free Tel: +45 80 88 87 53
Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:
Tel: +49 941 290 10-40
Fax: +49 941 290 10-50

nal von minden GmbH
Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany
www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com
Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1