

Rychlý imunochromatografický test na stanovení antigenu Chlamydií v cervikálním výtěru u žen, ve výtěru z uretry u mužů a ve vzorku moče mužů.

Provedení: kazeta  
Kat.číslo: ICH-502

Vyrábí: Innovacon, Inc.  
4106 Sorrento Valley Boulevard  
San Diego, CA92121, USA  
Zplnomocněný zástupce:  
MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, SRN  
CE

Distribuuje: inlab medical s.r.o. **ČSN EN ISO 9001:2001**  
Kubelíkova 1779/23, 130 00, Praha 3-Žižkov  
Telefon/Fax: (+420) 222721023, 222721025,  
222721032  
e-mail: inlab@inlab.cz  
www.inlab.cz

Zplnomocněný zástupce: Emergo Europe  
Molenstraat 15  
Haag, Holandsko

Určeno pro diagnostické účely *in vitro*, pouze k profesionálnímu použití!

## ÚVOD

Testovací kazeta s odběrovými tampóny je určena k rychlé kvalitativní imunochromatografické detekci Chlamydia Trachomatis v cervikálním výtěru u žen, ve výtěru z uretry mužů a ve vzorcích moče u mužů, který pomáhá diagnostikovat infekci Chlamydiemi.

## POPIS A VYSVĚTLENÍ TESTU

Infekce Chlamydií Trachomatis patří k celosvětově nejvíce rozšířené sexuální přenosné venerické infekci. Chlamydie se stává z jednoduchého těla (infekční forma) nebo existuje v replikační formě. Chlamydia Trachomatis má u obou pohlaví vysokou prevalenci a pestrý symptomatický průběh často s vážnými komplikacemi u žen a novorozenců. Komplikace chlamydiové infekce u žen zahrnují cervicitidu, uretritidu, endometritidu, záněty pánevního dna a zvýšené riziko mimoděložního těhotenství a neplodnosti. Během porodu může nastat tak zvaný vertikální přenos z matky na novorozence, jehož výsledkem může být konjunktivitida nebo pneumonie. Komplikace u mužů zahrnuje uretritidu a epididymidu. Až 40% negonokokových uretritid je způsobeno Chlamydiemi. Přibližně asi 70% infekcí u žen s endocervikálními infekcemi a asi u 50 % mužů s infekcí močové trubice probíhá asymptomaticky. Tradiční metodou k diagnostikování Chlamydií byly chlamydiové inkluze na tkáňových buněčných kulturách. Tato metoda je pracná i časově náročná (48 -72 hodin) a není rutinně prováděná ve většině institucí. Rychlý test na Chlamydii Trachomatis z cervikálního výtěru u žen a z výtěru močové trubice u mužů i ze vzorku moči mužů je proveden do 10 minut. Test využívá specifické protilátky proti Chlamydia Trachomatis z děložního hrdla žen, močové trubice mužů a ze vzorku moči u mužů.

## PRINCIP TESTU

Rychlý kazetový test na Chlamydii trachomatis ( z výtěrového tampónu nebo z moči) je kvalitativní imunochromatografický test k detekci antigenu Chlamydií z výtěru děložního hrdla žen, močové trubice mužů a vzorku moči mužů. V tomto testu je specifická protilátka proti antigenu Chlamydií ukotvena v oblasti testovací linie testu. V průběhu testování antigen extrahovaný do roztoku ,reaguje s protilátkou proti Chlamydiím ukotvenou na částicích. Putující směs reaguje s protilátkou na membráně a vytvoří barevnou linii v testovací oblasti. Přítomnost linie v testovací oblasti znamená pozitivní výsledek, chybění linie, negativní výsledek. Ke kontrole postupu slouží vývin zbarvení v oblasti kontrolní linie, které znamená, že

objem naneseného vzorku byl dostatečný a membrána byla neporušená.

## REAGENCIE

Test obsahuje protilátky proti Chlamydiím ukotvené na částicích a protilátky proti Chlamydiím ukotvených na membráně.

## MATERIÁLY

### Materiály, které jsou součástí testu

Testovací kazety. Sterilní výtěrové cervikální tampóny.		Zkumavky pro testování Kapátka. Příbalový leták. Stojánek. Kvantitativní pipety.
Reagencie A (0,2 M NaOH).	XI	R36/38, dráždí oči a kůži. S2, uchovávejte mimo dosah dětí. S46, v případě požití, vyhledejte okamžitě lékařskou pomoc a ukažte štítek s lahvičkou, pokud je to možné. S60, tento materiál a jeho obal musí být zlikvidován jako nebezpečný odpad.
Reagencie B (0,2N HCl).	C	R35, způsobuje těžké poleptání. S1,2, uchovávejte pod uzamčením. Uchovávejte mimo dosah dětí. S45, v případě nehody nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li to možné, ukažte štítek s označením). S60, tento materiál a jeho obal musí být zlikvidován jako nebezpečný odpad.

### Materiály, které jsou zapotřebí k provedení testu, ale nejsou dodávány

- Hodinky
- Centrifugační zkumavky (pouze pro vzorky mužské moči)
- Sterilní kelímky na moč (pouze pro vzorky moči mužů)
- Sterilní uretrální tampóny pro odběr vzorku od mužů

## BEZPEČNOSTNÍ VAROVÁNÍ DO DOBY NEŽ SE ZAČNE S TESTOVÁNÍM

- Určeno pouze pro použití profesionály jako diagnostikum in vitro. Nepoužívejte po době použitelnosti.
- Test musí zůstat v neotevřeném obalu do doby, než se začne s testováním.
- Nejezte, nepijte, nekuřte v prostředí, kde se používají testy a jsou odebrané vzorky.
- Nepoužívejte test, jehož obal je porušený.
- Zacházejte se všemi vzorky jako potenciálně infekčními. Zajistěte, aby byly zavedeny standardy, které doporučují postup, jak se má zacházet s použitým mikrobiologickým materiálem a odpadem. Během testování používejte ochranný oděv, rukavice a ochranné brýle. Likvidace testů by měla být v souladu s místními předpisy.
- Extrémní výkyvy vlhkosti a teploty prostředí mohou ovlivnit výsledek.
- K endocervikálnímu odběru používejte pouze sterilní štětičky.

## SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Soupravy testů skladujte v ochranných obalech při pokojové teplotě nebo v lednici (při 2-20° C). Test je stabilní během celé doby expirace, která je vytištěna na obalu, Test musí zůstat v ochranném obalu, až do začátku testování. **Neukládejte v mrazicím boxu.** Nepoužívejte po skončení doby expirace.

## ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

- Rychlý test z (výtěrového tampónu nebo moči) využívá odběrové tampóny pro ženy, muže anebo vzorky z moče mužů.
- Kvalita získaných vzorků je mimořádně důležitá. Detekce Chlamydií vyžaduje důkladný a technicky zdařilý odběr spíše buněčného materiálu, než tekutiny.
- K odběru **vzorku u žen jsou odběrové cervikální tampóny:**
- Použijte odběrový tampón, který je součástí soupravy. Alternativně může být použit jakýkoliv z plastu. Před odběrem vzorku setřete hlen z hrdla tampónem z buničiny a tampón zlikvidujte do odpadu. Odběrový tampón musí být zaveden do endocervikálního spojovacího kanálu tak, aby tampón štětičky nebyl vidět.
- To umožní odebrat buňky dlaždicového či cylindrického epitelu uvnitř endocervikálního kanálu, který je největším rezervoárem Chlamydií. Důkladně otočte tampónem o 360° po směru nebo proti směru hodinových ručiček a cca 15 vteřin nechte nasáknout, než odstraníte tampón. Dejte pozor, abyste nekontaminovali tampón cervikálními nebo vaginálními buňkami. Před odběrem vzorku neprovádějte výtěr 0,9% roztokem chloridu sodného.
- Pokud chcete získat okamžitě výsledek, vložte výtěrový tampón do extrakční zkumavky.
- K odběru **vzorku u mužů jsou určeny odběrové uretrální tampóny:**
- Standardní plastový nebo jiný sterilní tampón může být použitý k odběru vzorku z uretry. Poučte pacienta, aby nemočil hodinu před odběrem vzorku.
- Zasuňte tampón do močové trubice do hloubky asi 2 - 4 cm. Otočte tampónem o 360° po směru nebo protisměru hodinových ručiček. Nechte asi 10 vteřin nasáknout, než odstraníte tampón. Nepoužívejte k výtěru 0,9% roztok chloridu sodného (fyziologický roztok) před odběrem. Pokud test provedete ihned, vložte výtěrový tampón do extrakční zkumavky.
- K odběru **vzorku mužské moči:**
- Použijte 15 - 30 ml první ranní moč ze sterilního kelímku. První ranní moč je preferována proto, že je v ní nejvyšší koncentrace antigenu Chlamydií.
- Promíchejte moč otáčením kelímku. Odpipetujte 10 ml vzorku moči do centrifugační zkumavky, přidejte 10 ml

destilované vody a centrifugujte při 3000 otáčkách 15 minut.

- Odstraňte pečlivě supernatant, nakloňte zkumavku a přeneste trochu supernatantu ze zkumavky na savý papír.
- Pokud bude test proveden okamžitě po odběru, postupujte se sedimentem moči podle návodu.
- Doporučuje se, aby byl vzorek zpracován co nejdříve po odběru. Pokud není bezprostřední testování možné, odběrový tampón od pacienta, by měl být uložen do suché zkumavky k transportu. Tampóny mohou být uchovávány 4-6 hodin při pokojové teplotě (15 - 30 °C) nebo 24 - 72 hodin v lednici při (2 - 8 °C) Vzorky moči mohou být uchovávány v lednici při (2 - 8 °C) po dobu 24 hodin. Vzorek nezmrazujte. Všechny vzorky by měly být před testováním vytemperovány na (15 -30 °C).

## PROVEDENÍ TESTU

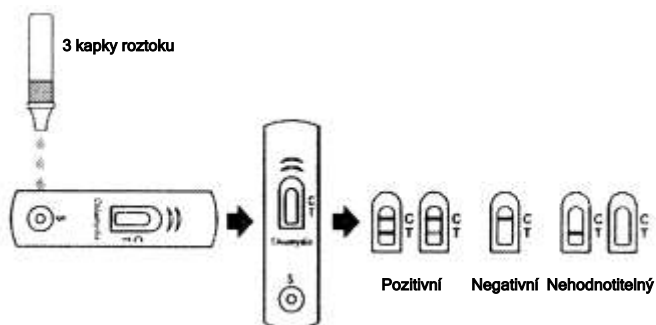
### Ženské cervikální nebo mužské uretrální vzorky:

- Držte reagenční lahvičku A vertikálně nad extrakční zkumavkou a **nakapejte 5 kapek reagensie A** (asi 300 µl) do extrakční zkumavky. Reagensie A je bezbarvá. Ihned vložte do zkumavky odběrový tampón, stiskněte ho ke dnu a asi 15 x jím otočte. Ponechte asi 2 minuty v klidu.
- Naplňte kvantitativní pipetu reagensií B až po vyznačenou značku na pipetě (přibližně 220 µl) potom **přidejte reagensii B**, která je světle žlutá. Nyní se roztok zakalí. Stiskněte tampón ke dnu zkumavky a **otočte jím asi 15x**, dokud se roztok nezbarví slabě zeleně nebo do modra. Pokud vzorek obsahuje stopy krve, barva se změní na žlutou nebo hnědou. Nechte stát vzorek asi 1 minutu.
- Stiskněte tampón proti stěně zkumavky a vyždímejte tampón do zkumavky. Zadržte ve zkumavce co nejvíce tekutiny. Na konec extrakční zkumavky nasadte kapací uzávěr.

### Vzorky mužské moči:

- Naplňte kvantitativní pipetu reagensií B až po vyznačenou linii (přibližně 220 µl), potom přidejte do moči sediment z centrifugační zkumavky a promíchejte zkumavku otáčením dolů a nahoru. Pipetou suspenzi důkladně promíchejte, aby byla homogenní.
- Přeneste všechny roztok z centrifugační zkumavky do extrakční zkumavky (ze soupravy) **Ponechte 1 minutu stát.** Držte Lahvičku A vertikálně proti extrakční zkumavce a **přidejte do ní 5 velkých kapek roztoku A** (přibližně 30 µl). Potom promíchejte na Vortexové míchače nebo promícháním roztoku. **Nechte stát 2 minuty.**
- Extrakční zkumavku uzavřete kapacím uzávěrem.
- Položte testovací kazetu na čistý hladký povrch. Přidejte 3 velké kapky (přibližně 100 µl) do jamky na vzorek označené (S) v testovací kazetě.
- Čekajte, až se objeví barevné linie. **Výsledek odečtěte za 10 minut.** Výsledek neinterpretujte později, než po 20 minutě.

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ



**POZITIVNÍ:** \* Objeví se 2 zřetelné linie. Jedna linie by měla být v oblasti kontrolní linie (C) a druhá v oblasti testovací linie (T), \* **Poznámka:** Slabá kontrolní linie v testovací oblasti (T) by měla být považována za pozitivní, i když je zbarvena světle.

**NEGATIVNÍ:** Objeví se 1 kontrolní linie v oblasti (C). Žádná linie se neobjeví v oblasti (T).

**NEHODNOTITELNÝ:** Kontrolní linie (C) se nevybarví.

Nejčastějšími důvody poruchy ve vybarvení kontrolní linie je nedostatečný objem vzorku, nebo nesprávný technický postup. Opakujte postup s novým testem. Pokud problém přetrvává, kontaktujte ihned Vašeho lokálního distributora.

### KONTROLA KVALITY

V soupravě je uložena kontrola, která ověří správnost postupu. Vybarvení kontrolní linie v oblasti (C) je považováno za vnitřní kontrolu. Potvrzuje to, že množství vzorku bylo dostatečné, membrána neporušená a test byl správně technicky provedený. Kontrola kvality postupu stejně tak jako externí kontrola kvality by měly být prováděny v souladu s předpisy a požadavky akreditační organizace.

### MOŽNÁ OMEZENÍ TESTU

- Rychlý test na stanovení Chlamydií z tampónů i moči je určen pouze k použití jako in vitro diagnostikum. Tento test je určen pouze k detekci antigenu Chlamydií z výtěrového tampónu cervikálního u žen nebo uretrálního u mužů a ze vzorků moči mužů. Není určen ke kvantitativnímu stanovení ani ke sledování změny koncentrace antigenu, je to test určený ke kvalitativnímu stanovení Chlamydiového antigenu.
- Tento test určuje pouze přítomnost Chlamydiového antigenu ve vzorku a to jak z živých, tak neživých Chlamydií.
- Detekování Chlamydií je závislé na počtu Chlamydií přítomných ve vzorku. To může být ovlivněno metodami odběru vzorku a faktory závislé na pacientovi, jako je věk, anamnéza přenosných pohlavních nemocí atd. Minimální detekční limit se odvíjí i od toho, jaká je hladina protilátek v séru. Z toho vyplývá, že výsledky by měly být interpretovány v souvislosti s dalšími laboratorními a klinickými daty, která má lékař k dispozici.
- Terapeutický úspěch nebo neúspěch závisí na vhodné antimikrobiální terapii.
- Stopy krve v tampónu, mohou být příčinou falešně pozitivních výsledků.

## HODNOTY ZÍSKANÉ PŘI VYŠETŘOVÁNÍ NA KLINIKÁCH PŘENOSNÝCH NEMOCÍ

U žen hospitalizovaných na klinikách pohlavních přenosných nemocí a jiné rizikové populace, je prevalence Chlamydiových infekcí uváděna mezi 20 až 30%. U nízké rizikové populace, jako jsou pacientky porodnických a gynekologických klinik, je prevalence přibližně 5% a méně.

Zprávy ukazují, že u mužů hospitalizovaných na klinikách přenosných pohlavních nemocí, je prevalence Chlamydiových infekcí přibližně 8% u symptomatických pacientů a 11% u asymptomatických pacientů. Nakažlivost Chlamydiemi u asymptomatických mužů je menší než 5%.

### PARAMETRY VALIDACE METODY

#### Citlivost

Rychlý kazetový test (z tampónů a moči) byl vyhodnocen ze vzorků získaných od pacientů z klinik přenosných pohlavních nemocí. Jako referenční metoda pro rychlý kazetový test na Chlamydie byla použita metoda PCR. Jako pozitivní byly vyhodnoceny ty vzorky, které měly pozitivní výsledky metodou PCR. Jako negativní, byly vyhodnoceny výsledky, které byly negativní metodou PCR. Výsledky ukazují, že rychlý kazetový test na Chlamydie z odběrových tampónů a moči má vysokou citlivost ve vztahu k PCR.

#### Specifická

Rychlý kazetový test na Chlamydie používá vysoce specifickou protilátku pro Chlamydiový antigen z cervikálního výtěru u žen, uretrálního výtěru mužů a ze vzorku moči mužů. Výsledky ukazují, že rychlá testovací kazeta na Chlamydie má vysokou specifitu ve vztahu k PCR.

#### Výsledky pro cervikální výtěr:

Metoda	Výsledky	PCR		Celkový počet výsledků
		Pozitivní	Negativní	
Rychlý kazetový test na Chlamydie	Pozitivní	46	3	49
	Negativní	6	87	93
Celkový počet výsledků		52	90	142

Citlivost: 88,5%  
 Specifická: 96,7%  
 Správnost: 93,7%

#### Výsledky pro uretrální výtěr:

Metoda	Výsledky	PCR		Celkový počet výsledků
		Pozitivní	Negativní	
Rychlý kazetový test na Chlamydie	Pozitivní	40	8	48
	Negativní	11	104	115
Celkový počet výsledků		51	112	163

Senzitivita: 78,4 %  
 Specifická: 92,9 %  
 Správnost: 88,3%

#### Výsledky pro vzorky moče mužů:

Metoda	Výsledky	PCR		Celkový počet výsledků
		Pozitivní	Negativní	
Rychlý kazetový test na Chlamydie	Pozitivní	20	0	20
	Negativní	2	47	49
Celkový počet výsledků		22	47	69

Senzitivita: 90,9 %  
 Specifická: > 99,0%  
 Správnost: 97,1%

### Zkřížená reaktivita

Použité protilátky v rychlé testovací kazetě na Chlamydie (ve výtěrech a moči) ukázaly, že jsou schopné detekovat všechny známé typy Chlamydií. Rychlým kazetovým testem na Chlamydie byly testovány typy Chlamydia psittaci a Chlamydia pneumoniae a byla u nich prokázána zkřížená reaktivita při testování suspenze od  $10^9$  CFU/ml. (Colony Forming Units) Byla testována i zkřížená reaktivita suspenzí s koncentrací  $10^9$  CFU/ml. Při testování byla nalezena negativní zkřížená reaktivita pro následující mikroorganismy.

Acinetobacter calcoaceticus Pseudomonas aeruginosa  
 Proteus mirabilis  
 Acinetobacter spp. Neisseria meningitidis Neisseria gonorrhoe  
 Enterococcus faecalis Salmonella cholerae Streptococcus sk.  
 B/C  
 Enterococcus faecium Candida albicans Haemophilus  
 influenzae  
 Staphylococcus aureus Proteus vulgaris Branhamella catharalis  
 Klebsiella pneumoniae Gardnerella vaginalis

### LITERATURA

Sanders J. W et al Evaluation of an Enzyme Immunoassay for Detection of Chlamydia Trachomatis in Urine of Asymptomatic Men. J. Clinical Mikrobiology, 32. 24 - 27, (1994).  
 Jaschek, G. et al Direct Detection of Chlamydia Trachomatis in Urine Specimen from Symptomatic and Asymptomatic Men by using a Rapid Polymerase Chain Reaction Assay. J. Clinical Mikrobiology, 31, 1209-1212, (1993).  
 Schachter. J. Sexually transmitted Chlamydia trachomatis infection. Postgraduate Medicine, 72, 60 - 69, (1982).

### SLOŽENÍ SOUPRAVY

1. Papírový stojánek na zkumavky
2. Reagencie A (0,2 M NaOH) - pozor žiravina
3. Reagencie B (0,2 N HCl) - pozor kyselina (leptavé účinky)
4. Odběrové tampóny pro odběr z děložního hrdla
5. Plastové zkumavky
6. Plastová pipeta s rýskou.
7. Plastové kapací uzávěry na víčka.

### POSTUP

1. Do papírového stojáčku vložte plastovou zkumavku.
2. Z plastové lahvičky A odšroubujte víčko.
3. Plastovou lahvičku A otočte vertikálně proti plastové zkumavce a nakapejte 5 kapek roztoku A do plastové zkumavky. Lahvičku uzavřete opět víčkem (Reagencie A ve zkumavce je bezbarvá).
4. Do zkumavky vložte odběrovou štětičku a otočte ji po dně zkumavky asi 15x, štětičku ponechte stát ve zkumavce asi 2 minuty.
5. Plastovou pipetou naplňte roztok B až po rýsku a obsah vypusťte do zkumavky. Barva roztoku se změní na světle žlutou a roztok se zakalí.
6. Zatlačte tampónem štětičku na dno a asi 15x štětičkou otočte po dně. Roztok by se měl vyjasnit a zbarvit do zelena nebo modra. Pokud by výtěrový tampón obsahoval stopy krve, barva roztoku může být žlutá až nahnědlá. Nechte stát v klidu 1 minutu.
7. Nyní tampón stlačte silně ke stěně zkumavky.
8. (vyždímejte z něho) maximální množství tekutiny. Výtěrovou štětičku uložte do biologického odpadu. Zkumavku uzavřete kapacím víčkem.
9. Ze zkumavky nakapejte na kazetu 3 kapky do jamky na vzorek označené S.
10. Vyčkejte 10 minut a pak odečtete výsledek
11. Interpretace výsledku viz příložený obrázek.

