

CHLAMY- CHECK-1

Test Rapido Immunocromatografico per
Chlamydia Trachomatis

CE
0483

20 test

REF 4009

PRINCIPIO

a) Sommario

Le Clamidiose sono batteri gram-negativi intracellulari obbligati appartenenti a tre specie diverse, i.e. *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci* (1).

E' ormai noto che questi patogeni siano non solo la causa del tracoma, malattia che affligge centinaia di milioni di persone nel terzo mondo, ma anche, nei paesi industrializzati, l'agente eziologico principale di una varietà di infezioni del tratto urogenitale trasmesse per via sessuale (2).

Le infezioni umane da Clamidia comprendono le congiuntiviti tracoma-incluso (TRIC), i linfogranulomi venerei (LGV) e un sempre crescente numero di infezioni trasmesse per via sessuale (per lo meno 25 sindromi cliniche) che prima si pensava fossero dovute ad altri agenti di eziologia sconosciuta (proctiti, cerviciti, infertilità, sindrome di Reiter, epididimiti, infiammazioni pelviche e gravidanze ectopiche) (3,4).

Le infezioni da clamidia rispondono bene al trattamento con antibiotici ma per il successo della terapia è essenziale effettuare una diagnosi clinica accurata, considerando anche il fatto che esse sono drammaticamente aumentate di numero (5).

Sono disponibili diversi metodi per la diagnosi della clamidia, come per esempio la coltura cellulare delle infezioni, l'immunofluorescenza, l'EIA o la PCR (6,7).

b) Principio

CHLAMY-CHECK-1 è un test rapido, sensibile e specifico per la determinazione diretta della clamidia, utilizzabile dal medico generico o su larga scala in laboratorio.

CHLAMY-CHECK-1 rileva la presenza del lipopolisaccaride specifico per il genere clamidia (LPS). Il metodo impiega la combinazione di un anticorpo monoclonale coniugato con colorante con anticorpi in fase solida che permettono di rivelare l'antigene LPS nei campioni con elevata specificità e sensibilità.

In questo test il campione (tampone endocervicale o uretrale) viene prima trattato con un tampone di estrazione per isolare l'antigene LPS eventualmente presente e successivamente aggiunto nel pozzetto della card.

Come il campione in esame muove per capillarità lungo il supporto assorbente, l'anticorpo coniugato con il colorante si lega all'antigene LPS formando un complesso antigene-anticorpo. Questo complesso si lega con l'anticorpo nella zona di reazione positiva producendo una striscia di colore rosa quando l'antigene LPS è presente in concentrazione sufficiente nel campione. In assenza dell'antigene non si rileverà alcuna linea rosa nella zona di reazione.

La miscela di reazione continua a fluire sulla membrana verso la zona di controllo. Coniugati non legati si fISSANO nella zona di controllo producendo una striscia di colore rosa, mostrando in tal modo che il test è stato eseguito correttamente.

COMPONENTI DEL KIT CHLAMY CHECK-1

Ogni kit contiene tutto il necessario per effettuare 20 test.

Composizione del kit:

CHLAMY CHECK-1 Card	20
Tampone sterile prelievo campione	20
Provette di estrazione con filtro	20
Soluzione estraente in flaconcini contagocce di plastica contenente soluzione salina, detergente e sodio azide (NaN ₃ <0.1%)	2x10 ml
Foglietto illustrativo	1

REF 4009

MATERIALI NON INCLUSI NEL KIT

- Tamponi uretrali sterili
- Cronometro

CONSERVAZIONE E STABILITA'

1. Tutti i componenti del kit devono essere conservati a temperatura ambiente (4-30°C). **Non congelare**
2. CHLAMY CHECK-1 è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

PRECAUZIONI

1. Solo per uso diagnostico "IN VITRO" e professionale.
2. Maneggiare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Una

volta completato il test, sterilizzare i campioni in autoclave per almeno un'ora prima di eliminarli. In alternativa, trattare i campioni con una soluzione di ipocloruro di sodio (0,5-1%) per un'ora prima di eliminarli.

3. Indossare indumenti protettivi come camice da laboratorio e guanti usa e getta durante il test. Evitare qualsiasi contatto con mani, occhi e naso durante il prelievo del campione e l'esecuzione del test.
4. Non mangiare, bere o fumare nella zona in cui si trovano i campioni e i reagenti.
5. Leggere attentamente le istruzioni prima di iniziare il test.
6. Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta.
7. Non utilizzare il test se la confezione protettiva è danneggiata.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Per tutti i test diagnostici per *Chlamydia trachomatis* è estremamente importante l'accuratezza nel metodo di raccolta del campione.

A) Campione endocervicale

1. Utilizzare il tampone fornito con il kit; in alternativa si può utilizzare un qualsiasi tampone con estremità in rayon o dacron. Non utilizzare tamponi con estremità in cotone o calcio arginato, impregnate di carbone, con stelo in legno o terreni di coltura contenenti agar o gelatina.
2. Prima del prelievo rimuovere il muco in eccesso presente nel canale endocervicale con un altro tampone o con un pezzo di cotone.
Nota: se non si elimina il muco in eccesso si possono ottenere dei falsi positivi.
3. Inserire il tampone nel canale endocervicale fino a che la maggior parte dell'estremità non sia più visibile. Ruotare il tampone per 15-30 secondi ed estrarlo senza toccare nessuna altra superficie vaginale. Il tampone può essere conservato secco in una provetta di plastica.
4. Il test dovrebbe essere condotto subito dopo la raccolta del campione. Se ciò non è possibile, conservare il tampone a 2-8°C per un massimo di 72 ore in una provetta di plastica. Non congelare.

B) Campione uretrale

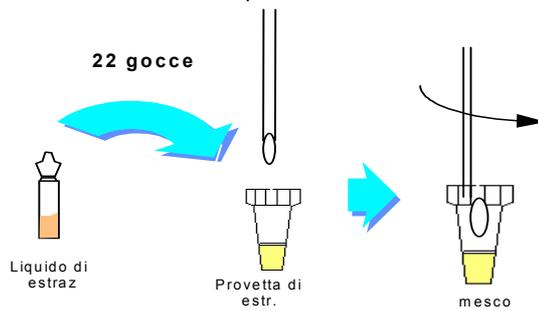
1. Utilizzare tamponi standard muniti di filo metallico con estremità in fibra o pennellini per citologia (non forniti con il kit). Istruire il paziente di non urinare per 1 ora prima di eseguire il prelievo.
2. Inserire il tampone nell'uretra per 2-4 cm, ruotarlo per 3-5 secondi ed estrarlo.
Per la conservazione del tampone riferirsi alle indicazioni fornite per il campione endocervicale.

PROCEDURA

Portare i reattivi ed i campioni a temperatura ambiente prima di utilizzarli.

A) ESTRAZIONE DEL CAMPIONE

1. Pipettare nella provetta di estrazione 22 gocce (0,9 ml) di soluzione estraente.
2. Immergere il tampone nella provetta di estrazione e agitarlo vigorosamente per 10 secondi per consentire la corretta miscelazione del campione con la soluzione estraente.



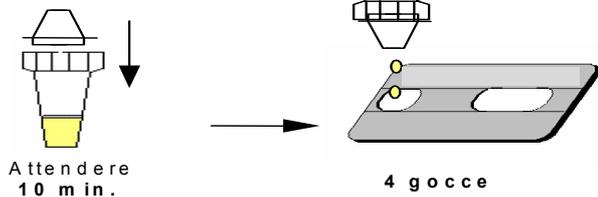
3. Lasciare incubare per 10-15 minuti a temperatura ambiente ponendo la provetta in un portaprovette (non fornito nel kit).
4. Durante il tempo di incubazione, agitare il tampone 2-3 volte per pochi secondi ciascuna volta. Premere il tampone contro le pareti
5. Dopo l'incubazione (10-15 minuti), rimuovere accuratamente dal tampone il liquido in eccesso schiacciando lo stesso contro le pareti della provetta.
6. Eliminare il tampone secondo le procedure di manipolazione degli agenti patogeni (vedere sezione Precauzioni).

L'estratto del tampone può essere conservato a temperatura ambiente per un massimo di 30 minuti.

B) PROCEDIMENTO DEL TEST

1. Togliere dalle confezioni il numero di card CHLAMY CHECK-1 necessarie all'uso e posizionarle su una superficie orizzontale.
2. Contrassegnare ogni card con il nome del paziente o un numero identificativo.

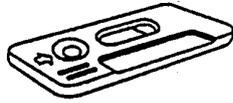
- Procedere all'estrazione del campione come sopra indicato (vd. ESTRAZIONE DEL CAMPIONE).
- Applicare alla provetta di estrazione il tappo con filtro (fornito con il kit) ed introdurre **4 gocce (150 µl) nel pozzetto tondo (▷)** della card.



- Lasciar assorbire ogni singola goccia prima di aggiungere la successiva ed evitare la formazione di bolle nel pozzetto.
- Lasciar procedere la reazione e leggere il risultato dopo 20 minuti dall'aggiunta del campione nel pozzetto (▷).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Negativo: compare una sola banda, di colore rosa, nella zona del controllo, per indicare che il test ha funzionato in modo corretto. Nessuna banda nella zona test. Il test è negativo per l'antigene della clamidia.



Positivo: in aggiunta alla banda rosa presente nella zona di controllo, compare nella zona del test una banda rosa chiaramente distinguibile. Questo indica presenza dell'antigene della clamidia nel campione. Anche una banda debole nella zona del test deve essere interpretata come un risultato positivo. L'intensità delle bande del test e del controllo può essere diversa, ma questo non influenza il risultato.



Inconcludente: non appare la linea nella zona del controllo. In questo caso il test deve essere ripetuto con un'altra card. Per fare ciò è possibile preparare del campione fresco oppure utilizzare il campione rimanente già estratto.

CATTERISTICHE DEL TEST

A) ACCURATEZZA

E' stato condotto uno studio su 425 campioni endocervicali utilizzando CHLAMY CHECK-1 e il metodo in coltura cellulare. In caso di discrepanze tra i due metodi si è utilizzato un saggio con PCR (Amplicor-Roche).

I risultati ottenuti sono riassunti nella tabella 1:

		Coltura cellulare		Total
		+	-	
CHLAMY CHECK-1	+	67	1	68
	-	5	352	357
Total		72	353	425

Tabella 1: confronto tra test CHLAMY CHECK-1 e metodo su coltura cellulare.

Da questi studi si ricava che la sensibilità del test CHLAMY CHECK-1 è del 93% (67/92) e la specificità del 99.7% (352/353).

E' stato effettuato un altro studio su *Chlamydia trachomatis* ceppo ref. ATCC VR 902 (sierotipo L2) per valutare la sensibilità 'assoluta' di CHLAMY CHECK-1.

Il limite di sensibilità di CHLAMY CHECK-1 è tra i 57 e 570 corpi elementari per test.

B) CROSS REAZIONI

Il test CHLAMY CHECK-1 rileva l'antigene LPS, comune a varie specie di clamidia.

Quindi *Chlamydia pneumoniae* e *Chlamydia psittaci* cross-reagiscono.

Per la maggior parte dei microrganismi che si possono trovare nei campioni genitali non si ha invece cross-reazione.

La seguente lista di microrganismi non viene rilevata da CHLAMY CHECK-1:

<i>Acholeplasma</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Mycoplasma spp</i>
<i>Aeromonas spp</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacteroides spp</i>	<i>Peptococcus spp</i>
<i>Campylobacter spp</i>	<i>Peptostreptococcus spp</i>
<i>Candida spp</i>	<i>Propionibacterium</i>

Citrobacter spp
Clostridium spp
Corynebacterium xerosis
Cytomegalovirus
Enterobacter spp
Escherichia coli
Fusobacterium
Gardnerella spp
Haemophilus influenzae
Herpes simplex virus
Klebsiella pneumoniae
Klebsiella spp
Lactobacillus spp
Listeria spp

Proteus spp
Pseudomonas spp
Salmonella spp
Saccharomyces cerevisiae
Serratia spp
Shigella spp
Staphylococcus spp (coag. Neg.)
Staphylococcus spp (coag. Pos.)
Streptococcus spp
Torulopsis globrata
Trichomonas spp
Ureaplasma urealyticum
Veillonella spp

C) PRECISIONE

1- Nella serie

E' stata determinate con 5 controlli replicati di clamidia sia negativi che positivi. Entrambi i controlli sono stati identificati correttamente nel 100% dei casi.

2- Tra le serie

E' stata determinata su 5 lotti diversi di CHLAMY CHECK-1 utilizzando gli stessi controlli di clamidia. Ancora una volta, i controlli negativi e positivi sono stati identificati correttamente nel 100% dei casi.

NOTE E LIMITAZIONI DEL TEST

- (*) I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose. Leggere le Schede di sicurezza.
- Il test è solo per uso diagnostico in vitro. Deve essere impiegato solo per la ricerca dell'antigene della *Chlamydia trachomatis* e solo su campioni ottenuti dalle regioni endocervicali ed uretrali.
- Campioni con un'eccessiva quantità di muco o di sangue possono dare falsi positivi.
- Come per tutti i test immunologici per la *Chlamydia trachomatis*, non è possibile distinguere tra organismi biologicamente attivi o inattivi.
- Il test da solamente un'indicazione di presenza o assenza dell'antigene di *Chlamydia trachomatis* nei campioni e non deve essere usato quale unica base per una diagnosi di infezione da Clamidia.
- Se i sintomi clinici persistono nonostante il test sia negativo, eseguire ulteriori test, come per esempio la coltura cellulare.
- Come per tutti i metodi diagnostici una diagnosi non dovrebbe essere basata solo sul risultato di un singolo test, ma sull'insieme dei dati del laboratorio, studi clinici e storia del paziente.

BIBLIOGRAFIA

- Hackstadt T. et al. Trends microbiol. 5, 1997 : 288-293
- MMWR MORB. Mortal Wkly rep. 1998 ; 47 : 1-118
- Burstein G. et al. JAMA 1996 : 280 : 521-526
- Stokes T. J. Public health med. 1997; 19: 222-232
- Lea A.P. et Lamb H.M. Pharmcoeconomics 1997; 12: 596-611
- Black C.M. Clin Microbiol. Rev. 1997; 10:160-184
- Schachter J. Immunol. Invest. 1997; 26: 157-161



Temperature limite



Leggere il foglietto illustrativo



Non riutilizzare



Per uso diagnostico in vitro

Prodotto da VEDALAB – Rue de l'Expansion – ZAT du Londeau
 CERISE – B.P. 181 – 61006 ALENÇON Cedex – FRANCE

Tamponi:



Edizione 04 - Gen 2013 MS miniclipversion

Distribuito da: **FAR** srl

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

Tel. +39 045 6700870 - Fax +39 045 7157763

sito web: <http://www.fardiag.com> e-mail: fardiag@fardiag.com