

EN



Key Code TSMX7847C
www.oxid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

IMAGEN™ Chlamydia

REF	K610111-2	 50
1. INTENDED USE		
The IMAGEN™ Chlamydia test is a qualitative immunofluorescence assay for the detection and identification of Chlamydia antigen directly from clinical samples (human urogenital and ophthalmic specimens) or as confirmation after growth in cell culture. Used in a diagnostic workflow to aid clinicians in treatment options for patients suspected of Chlamydial infection. The device is not automated, is for professional use only and is not a companion diagnostic.		
IVD - For <i>in vitro</i> diagnostic use. For professional use only.		
2. SUMMARY		

Chlamydiae are obligate intracellular parasites closely related to Gram negative bacteria¹. The genus Chlamydia contains three known species *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) and *Chlamydia pneumoniae* (*TWAR*).

The life cycle of Chlamydiae is complex but two main structures are recognised, the infectious elementary body and the reticulate body. Infection of a cell is initiated by the elementary body adhering to the host cell surface and gaining entry into the cell by endocytosis. The elementary body enlarges within the vacuole formed by the host cell membrane and differentiates to form a reticulate body. The reticulate body is concerned exclusively with the multiplication of Chlamydiae and divides by binary fission utilising the host cell energy supply. Approximately 24 hours post-infection the reticulate bodies differentiate within the expanding inclusion to form elementary bodies. The replicative cycle lasts 48-72 hours and terminates with inclusion rupture and release of elementary bodies. A mature inclusion may contain approximately 10⁴ Chlamydial elementary bodies and occupy 75% of the host cell volume.

C. trachomatis has been recognised as a frequent cause of sexually transmitted diseases^{1,2} and has been shown to cause a variety of human infections, some of which may be asymptomatic.

In adults *C. trachomatis* can also cause acute or subacute follicular conjunctivitis which may progress to a punctate keratitis. Occasionally scarring and endemic trachoma may develop. Most of these symptoms develop in patients who have unrecognised genital infections^{1,3}. Ophthalmia neonatorum is also a complication found in children born to an infected mother.

Anatomical sites usually sampled for the diagnosis of Chlamydia include the conjunctiva, endocervix and urethra. In males, particularly adolescents and asymptomatic males investigated after follow-up contact tracing, invasive urethral swabbing may not be possible. In such cases collection of first catch urine specimens and examination of the centrifuged deposit has been suggested⁴. Respiratory specimens (e.g. sputum) have also been examined directly for detection of *C. psittaci* and *C. pneumoniae* in the investigation of respiratory infections^{5,6}.

Currently there are 3 main diagnostic methods used for the detection of Chlamydia in clinical specimens. Firstly, by isolation of the organism and visualisation, in which viable elementary bodies present in clinical specimens infect tissue culture cells and the resultant inclusions are detected by staining techniques eg. iodine or immunofluorescence. Secondly, by direct demonstration of Chlamydia in clinical specimens using a fluorescein labelled monoclonal antibody. Thirdly, by enzyme immunoassay to determine the presence of Chlamydia antigen in clinical specimens⁷.

Direct immunofluorescence techniques utilising fluorescein labelled monoclonal antibodies^{8,9,10} have been shown to have good correlation when compared to cell culture techniques for the detection of *C. trachomatis*.

The IMAGEN Chlamydia test is a direct immunofluorescence test for the detection and identification of Chlamydiae in clinical specimens or cell cultures. The test utilises a genus specific monoclonal antibody to Chlamydia lipopolysaccharide antigen present in all known strains of Chlamydiae.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The IMAGEN Chlamydia test Reagent contains fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugated monoclonal antibody. The genus specific monoclonal antibody will detect elementary bodies from all known human serovars of *C. trachomatis* as well as strains of *C. psittaci* and *C. pneumoniae*.

The conjugated antibody is used in a one step direct immunofluorescence technique. Specimens are incubated with the FITC conjugated Reagent for 15 minutes. Excess Reagent is then removed by washing with phosphate buffered saline (PBS), the stained areas are mounted and viewed using epifluorescence illumination. If Chlamydia are present within the clinical specimen they will be seen as bright apple-green fluorescent elementary bodies which contrast against the background of counterstained material. Infected cell culture monolayers stained with the FITC conjugated monoclonal antibody will contain bright apple-green intracytoplasmic Chlamydial inclusions which contrast against the background of counterstained cellular material.

Acknowledgement

The monoclonal antibody originated in the Department of Pathology, University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom and the Division of Communicable Diseases, Clinical Research Centre, Harrow, Middlesex, United Kingdom.

4. DEFINITIONS	
The following symbols have been used throughout the product information.	
	Catalogue Number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitations (Storage temp.)
	Contains sufficient for <N> tests
	Not for near patient testing
	Do not re-use
	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
	Importer
	Unique Device Identifier
	Authorized representative in the European Community
	European Conformity Assessment
	Manufacturer

	8°C
2°C	

Each kit contains sufficient materials for testing 50 cell culture preparations. The shelf-life of the kit is as indicated on the outer box label.

In the event of malfunction do not use device.

Serious Incidents

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

	Instructions For Use
	2 x 1 well Positive Control Slide containing acetone-fixed mouse connective tissue cells (L929) infected with L ₁ strain of <i>C. trachomatis</i> .

One bottle of each of the following:

	3mL of Mounting Fluid. The Mounting Fluid contains a photobleaching inhibitor in a glycerol solution (pH10.0).
	1.4mL of IMAGEN Chlamydia test Reagent. The Reagent contains purified murine monoclonal antibody specific to the genus Chlamydia conjugated to FITC.

5.2. PREPARATION, STORAGE AND RE-USE OF KIT COMPONENTS

In order to ensure optimal kit performance, it is important that all unused kit components are stored according to the following instructions:

5.3. POSITIVE CONTROL SLIDES - 
Positive Control Slides are provided individually in sealed foil pouches with nitrogen. Store unused slides at 2-8°C. The slide should be left for 5 minutes at room temperature (15-30°C) before opening.

Stain the slide immediately after opening.

5.4. MOUNTING FLUID - 
Ready to use. Store unused Mounting Fluid at 2-8°C. The Mounting Fluid should be left at room temperature (15-30°C) for 5 minutes before use.

5.5. REAGENT - 
Ready to use. Store unused Reagent in the dark at 2-8°C. The Reagent should be left at room temperature (15-30°C) for 5 minutes before use.

6. ADDITIONAL REAGENTS	
6.1. REAGENTS	Fresh acetone (for fixation) Phosphate buffered saline (PBS) pH 7.5 for washing stained specimens and monolayers.
6.2. ACCESSORIES	The following products are intended for use in conjunction with IMAGEN Chlamydia. Contact your local distributor for further information. Teflon coated glass microscope slides with single 6mm diameter well (100 slides per box) available from your local distributor, (Code No. S611430-6). IMAGEN Chlamydia Positive Control Slides (Code No. S610930-2).

7. EQUIPMENT	
The following equipment is required: Precision pipette and disposable tips to deliver 25µL Wash bath Coverslips suitable to cover 6mm diameter well Non-fluorescing immersion oil	
Epifluorescence microscope with filter system for FITC (maximum excitation wavelength 490nm, mean emission wavelength 520nm) and lenses for x200-x400 and x600-x1000 magnification	
Incubator at 37°C with a moist chamber Low speed centrifuge	

Cell Culture	
Sterile swabs and transport medium suitable for the collection, transportation and culture of Chlamydiae Cell culture lines recommended for isolation of Chlamydia	

8. PRECAUTIONS	
8.1. SAFETY PRECAUTIONS	
8.1.1	The IMAGEN Chlamydia test Reagent contains <0.1% sodium azide, which is a poison. Sodium azide may react with copper and lead plumbing systems to form explosive metal azides. Always dispose of materials containing azide by flushing with large quantities of water.
8.1.2	Chlamydiae on the Positive Control Slide have been shown to be non-infectious in cell culture, however the slide should be handled and disposed of as though potentially infectious.
8.1.3	Evans blue dye is present in the Reagent. Although present below the concentration for the product to be classified as carcinogenic, contact with the skin should be avoided.
8.1.4	Care should be taken when using the Mounting Fluid as it contains a known skin irritant. Although present below the concentration for the product to be classified as an irritant, skin should be flushed with water if contact occurs.
8.1.5	The IMAGEN Chlamydia test Reagent contains human immunoglobulin. This material has been shown to be negative for the presence of antibody to HIV, Hepatitis C and Hepatitis B surface antigen, nevertheless it should be handled with care and treated as potentially infectious.

8.1.6	Do not eat, drink, smoke, store or prepare foods, or apply cosmetics within the designated work area.
8.1.7	Do not pipette materials by mouth.
8.1.8	Wear disposable gloves while handling clinical specimens and infected cells, always wash hands after working with infectious materials.

8.1.9	Dispose of all clinical specimens in accordance with local legislation.
8.1.10	Safety data sheet available for professional user on request.

8.2. TECHNICAL PRECAUTIONS	
8.2.1	Components must not be used after the expiry date printed on the labels. Do not mix or interchange different batches/lots of Reagents.
8.2.2	The Reagents are provided at fixed working concentrations. Assay performance will be adversely affected if the Reagents are stored under conditions other than those detailed in Section 5.
8.2.3	Prepare fresh Phosphate Buffered Saline (PBS) as required on the day of use.
8.2.4	Washing in PBS is necessary. Use of other wash solutions such as tap water or distilled water will compromise test results.
8.2.5	Avoid microbial contamination of Reagents.
8.2.6	The Reagents must not be frozen.

9. COLLECTION AND PREPARATION OF SPECIMENS^{7,8}	
Specimens collected from the male urethra, female cervix and from conjunctiva must contain as many epithelial cells as possible as Chlamydiae are intracellular organisms that infect epithelial surfaces ¹ .	
9.1. CLINICAL SPECIMENS	
9.1.1 Urethral specimens (male)	
Swab urethra by inserting an alginate or cotton wool-tipped thin swab, 2-4cm into the urethra. Rotate the swab several times and withdraw from the urethra.	
9.1.2 Cervical specimens (female)	
Before sampling the endocervix clean the cervical os with sterile gauze to remove excess mucus, blood/pus etc. Swab endocervix by using alginate or cotton wool-tipped swab or a cytology brush approximately 1cm into the cervical canal. Rotate several times at the squamo-columnar epithelial junction and withdraw the swab without touching vaginal surfaces.	
9.1.3 Ophthalmic specimens	
Apply local anaesthetic to the eye, then expose upper and lower conjunctiva. Using a cotton or Dacron® tipped swab vigorously wipe both upper and lower conjunctival surfaces, rotating the swab during the sampling process to ensure that the entire conjunctival surface is sampled.	
9.1.4 Preparation of slides	
Roll the specimen swab, using slight pressure, within the 6mm well area on the microscope slide. Ensure that the whole swab tip is used to prepare the slide. Allow the specimen to air dry thoroughly at room temperature (15-30°C) and then fix in fresh acetone for 10 minutes. Allow the slide to air dry. If the specimen is not stained immediately store at 2-8°C overnight or freeze at –20°C for up to 2 months.	
9.2. CELL CULTURE MONOLAYERS	
For cell culture growth use established laboratory methods for inoculation and growth in McCoy cells ^{9,14,15} .	
Remove medium from surface of the monolayer. Do not allow the cells to dry as inclusion bodies may burst. Immediately fix monolayer in fresh methanol for 10 minutes then carefully blot dry using blotting paper.	
For best results fixed monolayers should be stained and examined immediately.	

10. TEST PROCEDURE	
PLEASE REFER TO SECTION 8.2 TECHNICAL PRECAUTIONS BEFORE PERFORMING TEST PROCEDURE.	
10.1. ADDITION OF REAGENT	
Add 25µL of Reagent to the fixed specimen smear (see Section 9.1), fixed cell culture monolayer (see Section 9.2) or the Positive Control Slide. Ensure that the Reagent covers the entire well area.	
10.2. FIRST INCUBATION	
Incubate the slides with Reagent in a moist chamber for 15 minutes at 37°C . Do not allow the Reagent to dry on the specimen, as this will cause the appearance of non-specific staining.	
10.3. WASHING THE SLIDE	
Wash off excess Reagent with Phosphate Buffered Saline (PBS) then gently wash the slide in an agitating bath containing PBS	

for 5 minutes. Drain off PBS and allow the slide to air dry at room temperature (15-30°C).

10.4. ADDITION OF MOUNTING FLUID	
Add one drop of Mounting Fluid to the centre of each well and place a coverslip over the Mounting Fluid and specimen ensuring that no air bubbles are trapped.	
10.5. READING THE SLIDE	
Examine the entire well area containing the stained specimen using an epifluorescence microscope. Fluorescence, as described in Section 11, should be visible at x600–x1000 magnification. (For best results slides should be stained and examined immediately).	

11. INTERPRETATION OF TEST RESULTS	
11.1. CONTROLS	
11.1.1 Positive Control Slides	
When viewed as described in Section 10, the Positive Control Slide should show extracellular elementary bodies (EBs) which appear as very small bright apple-green fluorescent smooth edged disc shapes approximately 300nm in diameter. EBs can be observed against a background of red counterstained cells and cellular debris. Other Chlamydial forms 2-3 times larger than EBs may be seen, some of which fluoresce evenly or possess dark centres surrounded by a halo of apple-green fluorescence. These may be intermediate forms of Chlamydia or reticulate bodies. Occasionally, large brightly fluorescent intact intracytoplasmic Chlamydial inclusions may be observed.	
11.1.2 Negative Control	
If a negative control is required, uninfected intact or ruptured cells of a type used for the culture and isolation of Chlamydia are recommended. The cells should be prepared and fixed as described in Section 9.2 and stained as described in Section 10.	
11.2. CLINICAL SPECIMENS	
11.2.1 Appearance of Chlamydial Bodies	
Extracellular elementary bodies are the most common form of Chlamydia in clinical specimens and appear as bright apple- green smooth edged bodies approximately 300nm in diameter as described in Section 11.1.1.	
11.2.2 Interpretation of Results	
A positive diagnosis is made when fixed, stained specimens show at least 10 Chlamydial bodies. This level is recommended in order to reduce false positive results due to misinterpretation of non-specific fluorescence. Counterstained cells must be visible in a well before negative results are reported. These cells may be intact or ruptured columnar and squamous epithelial cells or occasionally polymorphonuclear leucocytes. The absence of cellular material may indicate poor quality of specimen collection and repeat sampling is recommended.	
11.2.3 Non-specific Fluorescence	
Irregularly shaped material that differs in morphology from the Chlamydia bodies described in Section 11.1.1. which fluoresces white, red or yellow rather than apple-green should be considered as non-specific staining.	
11.3. CELL CULTURE CONFIRMATION	
11.3.1 Appearance of Chlamydial Inclusions	
Intracellular Chlamydia inclusions appear as bright apple-green sacs within the cytoplasm of infected cells. An inclusion may occupy up to 75% of the host cell cytoplasm.	
11.3.2 Interpretation	
A positive diagnosis is made when one or more stained intracellular Chlamydia inclusion is seen in the monolayer.	
12. PERFORMANCE LIMITATIONS	
12.1. The visual appearance of the fluorescence image obtained may vary due to the type of microscope and light source used.	
12.2. Use only the Mounting Fluid provided.	
12.3. It is recommended that 25µL of Reagent is used to cover a 6mm diameter well area. A reduction in this volume may lead to difficulties in covering the specimen area and may reduce sensitivity.	
12.4. All Reagents are provided at fixed working concentrations. Test performance may be affected if the Reagents are modified in any way or not stored under the recommended conditions as outlined in Section 5.	
12.5. Failure to detect Chlamydia in cell culture may be a result of factors such as collection of specimen at an inappropriate time of disease, improper sampling and/or handling of specimen, failure of cell culture etc. A negative result does not exclude the possibility of Chlamydial infection.	
12.6. Antigen detection systems such as IMAGEN Chlamydia should not be used to provide information for medico-legal cases. Only standard Chlamydia cultures should be used in the evaluation of suspected abuse or other situations in which the possibility of a false positive result with antigen detection systems is unacceptable ¹¹ .	
12.7. The presence of Chlamydia in clinical specimens does not necessarily exclude the possibility of concomitant infection with other pathogens. Test results should be interpreted in conjunction with information available from epidemiological studies, clinical assessment of the patient and other diagnostic procedures.	
13. EXPECTED VALUES	
The prevalence of Chlamydia infections in a study population will vary according to the type of population studied ^{1,2} . The prevalence of uro-genital Chlamydia infection for unselected patients attending a genito-urinary medicine clinic will vary between 10% to 25%. For patients attending with non-specific urethritis and post-gonococcal urethritis the prevalence may be as high as 30% to 60%.	
A lower prevalence of uro-genital Chlamydia infection (less than 10%) may be found in populations of patients attending obstetric and gynaecology clinics ^{1,12} .	
The prevalence of ophthalmic Chlamydia infections may vary between 5% to 20% in studies of paratrachoma (inclusion conjunctivitis) ^{1,9} .	

14. REACTIVITY PERFORMANCE CHARACTERISTICS

14.1. SPECIFICITY OF THE MONOCLONAL ANTIBODY

The monoclonal antibody utilised in the IMAGEN Chlamydia Reagent has been shown to react with an epitope of Chlamydial lipopolysaccharide antigen common to all strains of Chlamydiae.

Non specific staining is sometimes observed in immunochemical staining due to binding between antibody Fc regions and protein A produced by some strains of *Staphylococcus aureus*. The IMAGEN Chlamydia Reagent has been designed to reduce such binding.

14.2. CLINICAL PERFORMANCE¹³

14.2.1 Uro-Genital Specimens

Clinical trials were carried at two external sites to assess the performance of the reformulated IMAGEN Chlamydia reagent (contains human IgG at 1 mg/ml) for the detection of *C. trachomatis* from urinogenital specimens. The performance was compared with both the IMAGEN Chlamydia reagent which was on the market at the time (no human IgG) and routine cell culture for *C. trachomatis*.

117 specimens (77 male and 40 female) were tested at Centre 1 and 100 specimens (39 male and 61 female) at Centre 2. For all specimens only one swab was taken. Half of the swab was rolled onto an 8 mm single well slide. The swab was then placed into Chlamydia culture transport medium. The slides were fixed as described in the product information leaflet and then the well was divided into two using a thin line of colourless nail varnish. A 10 µl volume of appropriate IMAGEN reagent (reformulated or old formulation) was added to the appropriate half of the well. All other steps were carried out according to the product information leaflet. A sample was scored positive if ten or more elementary bodies were seen. For cell culture, Cytochalsin B treated McCoy cell monolayers were stained by Giemsa and observed by dark-ground microscopy.

The sensitivity, specificity and predictive values were calculated assuming that cell culture was 100% sensitive and specific. The relevant sensitivity, specificity and correlation of the tests are shown below.

Table 14.2.1A. Comparison the reformulated IMAGEN Chlamydia reagent and cell culture.

		Male patients		Female patients		Combined data	
		Cell culture		Cell culture		Cell culture	
		+	-	+	-	+	-
Reformulated reagent – Centre 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Reformulated reagent – Centre 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ Positive
- Negative

Table 14.2.11B. Performance of the reformulated IMAGEN Chlamydia reagent vs the previous (old) formulation.

		Reformulated		Old formulation	
		Raw value	%	Raw value	%
Centre 1	Sensitivity	15/16	93.8%	15/16	93.8%
	Specificity	101/101	100%	101/101	100%
	Correlation with culture	116/117	99.1%	116/117	99.1%
	Positive predictive value	15/15	100%	15/15	100%
	Negative predictive value	101/102	99.0%	101/102	99.0%
Centre 2	Sensitivity	16/19	84%	17/19	89%
	Specificity	80/81	99%	76/81	94%
	Correlation with culture	96/100	96%	93/100	93%
	Positive predictive value	16/17	94%	17/22	77%
	Negative predictive value	80/83	96%	76/78	97%

14.2.2 Ophthalmic Specimens

The IMAGEN Chlamydia test was evaluated in a routine diagnostic laboratory against an established cell culture system (Giemsa staining of pre-treated McCoy cell monolayers after primary culture with specimens).

Conjunctival swabs were collected from 178 patients with acute follicular conjunctivitis attending an eye hospital; 163 were aged 13-55 years, 3 were babies (10 weeks-12 months) and 12 were neonates (12 days-4 weeks). The incidence of Chlamydia infection in the population group sampled was 8%. Smears were made from specimen swabs at the clinic and the swabs then placed in transport medium for cell culture evaluation.

A specimen was scored positive in the IMAGEN Chlamydia test when 10 or more fluorescing bodies were observed (see Section 11.2.2). A specimen was scored positive in the cell culture test when at least one stained intracytoplasmic inclusion was observed.

The results from this trial are shown in Table 14.2. Of 178 specimens tested, the same result was obtained by both methods in 174 cases, a correlation of 98%. The sensitivity and specificity of the IMAGEN Chlamydia test was 100% and 97.5% respectively, assuming that the cell culture method was 100% sensitive and specific. The predictive values for positive and negative tests were 79% and 100% respectively.

Table 14.2 Comparison of test results by cell culture and IMAGEN Chlamydia test on Ophthalmic Specimens

TEST	RESULT			
Cell Culture	Negative	Positive	Positive	Negative
IMAGEN Chlamydia	Negative	Positive	Negative	Positive
Number of Specimens	159	15	0	4*

* These specimens were taken from patients undergoing antibiotic therapy. This may have compromised the cell culture result⁹.

14.2.3 Cell Culture Confirmation

The IMAGEN Chlamydia test was evaluated as a culture confirmation test against 2 routinely used culture confirmation staining procedures (Giemsa and iodine). 132 uro-genital specimens were each inoculated on to 3 iododeoxyuridine treated McCoy cell coverslip (shell vial) monolayers. Inoculated monolayers were incubated at 37°C for 48 to 72 hours then fixed in methanol for 10 minutes.

Fixed monolayers were stained with either Giemsa, iodine or the IMAGEN Chlamydia test Reagent. A specimen was scored

positive when at least one stained intracytoplasmic inclusion was observed microscopically.

The results from this trial are shown in Table 14.3. Of 132 specimens tested, 56 (42%) developed inclusion bodies. Iodine staining detected Chlamydia in 46 of these specimens, Giemsa staining in 49 specimens and the IMAGEN Chlamydia in 56 specimens.

Table 14.3 Comparison of staining methods for the detection of Chlamydial inclusions in shell vial culture

TEST	RESULT				
IMAGEN Chlamydia	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive
Giemsa Staining	Positive	Negative	Negative	Positive	Negative
Iodine Staining	Positive	Negative	Negative	Negative	Positive
Number of Specimens	42	76	3	7	4

14.3. CROSS REACTIVITY

The monoclonal antibody used in the IMAGEN Chlamydia has been shown to be non-reactive to the following micro-organisms.

<i>Acinetobacter calcoaceticus var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli (0124 used)</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. Equisimilis</i>
<i>Herpes simplex virus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i>	

Additionally, no cross-reactivity is expected with Mycoplasma and Ureaplasma species.

15. SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE

The Summary of Safety and Performance (SSP) for this device is/will be available in the European database on medical devices (Eudamed, <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>), where it is linked to the device's Basic UDI-DI (5032384ImagenChlamydiaW7).

16. REFERENCES

- Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
- Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/TRIC agents.
In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J.
5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
- Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
- Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
- Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
- Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
- Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
- Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
- Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681
- Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.
- CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39**: 932-935.
- Chlamydial Infections (1986)**
Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.
From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.
- Galen, R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
- Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92-5
- Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, UK

For all enquiries please contact your local distributor.

www.thermofisher.com

Version	Date of modifications introduced
X7847C	June 2023
	Updated to meet IVDR requirements

Printed in the UK

	
Ключов код TSMX7847C	
www.oxid.com/ifu	
Европа +800 135 79 135 САЩ 1 855 2360 190 Канада 1 855 805 8539 Останалия свят +31 20 794 7071	

IMAGEN™ Chlamydia

REF	K610111-2	 50
------------	-----------------	-------------------------------

1. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Тестът IMAGEN™ Chlamydia е качествен имунофлуоресцентен анализ за откриване и идентифициране на антиген на хламидия директно от клинични проби (човешки урогенитални и офталмологични образци) или като потвърждение след развитие в клетъчна култура. Използва се в диагностичните процедури като помощно средство за лекари при опциите за лечение за пациенти със съмнение за инфекция с хламидия. Изделието не е автоматизирано, само за професионална употреба е и не е предназначено за съпътстващо диагностично изделие.

IVD – За *in vitro* диагностична употреба. Само за професионална употреба.

2. ОБОБЩЕНИЕ

Хламидиите са облигатни вътреклетъчни паразити, близкородствени с грам-отрицателните бактерии¹. Родът Chlamydia съдържа три известни вида *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Chlamydia psittaci* (*C. p sittaci*) и *Chlamydia pneumoniae* (*TWAR*).

Жизненият цикъл на хламидиите е сложен, но се различават две известни форми – инфекциозно елементарно телце и ретикуларно телце. Инфекция на клетка се инициира от елементарното телце, прилепващо се към повърхността на клетката гостоприемник и навлизащо в клетката чрез ендоцитоза. Елементарното телце се уголемява във вакуолата, образувана от мембраната на клетката гостоприемник, и се диференцира, за да образува ретикуларно телце. Работата на ретикуларното телце е изключително размножаването на хламидиите и се дели чрез бинарно делене, като използва енергията на клетката гостоприемник. Приблизително 24 часа след инфекцията ретикуларните телца се диференцират в рамките на разширяващата се инклузия, за да образуват елементарни телца. Репликационният цикъл продължава 48 – 72 часа и се прекъсва с разкъсване на инклузията и освобождаването на елементарните телца. Зряла инклузия може да съдържа приблизително 10⁴ елементарни телца на хламидия и заема 75% от обема на клетката гостоприемник. *C. trachomatis* е определена за честа причина за болести, предавани по полов път^{1,2}, и е установено, че е причина за множество човешки инфекции, някои от които могат да бъдат асимптоматични.

При възрастни *C. trachomatis* може също да причини остър или подостър фоликуларен конюнктивит, който може да прогресира до точков кератит. Понякога могат да се развият скарификация и ендемична трахома. Повечето от тези симптоми се развиват при пациенти, които имат неидентифицирани генитални инфекции^{1,3}. Ophthalmia neonatorum е усложнение, установено при деца, родени от заразена майка.

Анатомичните области, от които се вземат проби за хламидия, са конюнктивални, ендоцервикса и уретрата. При мъже, особено юноши и асимптоматични мъже, изследвани поради проследяване на контактите, инвазивното вземане на уретрален секрет може да не е възможно. В такива случаи се препоръчва вземане на образци от първа сутрешна урина и изследване на центрофугиран преципитат⁴. Образци от дихателните пътища (напр. спутум) също са изследвани директно за откриване на *C. psittaci* и *C. pneumoniae* в изследванията на респираторни инфекции^{5,6}.

Към момента има 3 основни диагностични метода, използвани за откриването на хламидия в клинични образци. Първо, чрез изолиране на организма и визуализация, при която жизнеспособни елементарни телца, намиращи се в клиничните образци, заразяват клетки от тъканна култура и получените инклузии се откриват чрез техники на оцветяване, напр. йод или имунофлуоресценция. Второ, чрез директно доказване на наличие на хламидия в клинични образци с използване на маркирани с флуоресценн моноклонални антитела. Трето, чрез ензимен имуноанализ за определяне на наличието на антиген на хламидия в клинични образци⁷.

Установено е, че техниките на директна имунофлуоресценция, използващи маркирани с флуоресцеин моноклонални антитела^{8,9,10}, имат добра корелация в сравнение с техниките с клетъчни култури за откриване на *C. trachomatis*.

Тестът IMAGEN Chlamydia е директен имунофлуоресцентен тест за откриване и идентифициране на хламидия в клинични образци или клетъчни култури. Тестът използва специфично за рода моноклонално антитяло срещу липополизахаридния антиген на хламидия, присъстващ във всички известни щамове на хламидия.

3. ПРИНЦИП НА ТЕСТА

Реактивът на теста IMAGEN Chlamydia съдържа флуоресцеин изотиоцианат (FITC) конюгирано моноклонално антитяло. Специфичното за рода моноклонално антитяло ще открие елементарните телца от всички известни човешки серовари на *C. trachomatis*, както и щамове на *C. psittaci* и *C. pneumoniae*.

Конюгираното антитяло се използва в едноетапна техника на директна имунофлуоресценция. Образците се инкубират с FITC конюгиран реактив за 15 минути. Излишният реактив се отстранява след това чрез отмиване с буфериран с фосфат физиологичен разтвор (PBS), оцветените зони се закрепват на плоска повърхност и се разглеждат с помощта на епифлуоресцентно осветление. Ако хламидиите присъстват в клиничния образец, те ще се наблюдават като ярки ябълковозелени флуоресцентни елементарни телца, които контрастират на фона на контрастно оцветения материал. Инфектираните единични слоеве на клетъчната култура, оцветени с FITC конюгирано моноклонално антитяло, ще съдържат ярки ябълковозелени интрацитоплазмени инклузии на хламидия, които контрастират на фона на контрастно оцветения клетъчен материал.

Потвърждение

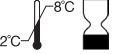
Моноклоналното антитяло е създадено в Катедрата по патология, Университет на Кеймбридж, Кеймбридж, Обединеното кралство и Отдела по заразни болести, Център за клинични изследвания, Хароу, Мидълсекс, Обединеното кралство.

4. ДЕФИНИЦИИ

Следващите символи са използвани в продуктовата информация.

REF	Каталожен номер
IVD	Медицинско изделие за инвитро диагностика
 i	Консултирайте се с инструкциите за употреба (IFU)
	Ограничения за температурата (температура на съхранение)
∑ N	Съдържа достатъчно материали за <N> теста
	Не е предназначен за извънлабораторно тестване
	Да не се използва повторно
LOT	Код на партидата (Партиден номер)
	Да се използва до (Срок на годност)
	Вносител
UDI	Уникален идентификатор на изделието
EC REP	Оторизиран представител за Европейската общност
CE	Европейска оценка за съответствие
	Производител

5. ПРЕДОСТАВЕНИ РЕАКТИВИ



Всеки комплект съдържа достатъчно материали за тестване на 50 бр. препарата на клетъчна култура. Срокът на годност на комплекта е посочен на етикета на първичната опаковка.

В случай на нарушаване на работата на изделието, не го използвайте.

Сериозни инциденти

Всеки сериозен инцидент, който е възникнал във връзка с изделието, трябва да бъде докладван на производителя и на компетентния орган на страната членка, в която са установени потребителят и/или пациентът.

5.1. РЕАКТИВИ на IMAGEN Chlamydia

	Инструкции за употреба
POSITIVE CONTROL SLIDE	Предметно стъкло за положителна контрола с 2 x 1 ямка, съдържащ фиксирани с ацетон клетки от миша съединителна тъкан (L929), инфектирани с L ₁ щам на <i>C. trachomatis</i> .

По една бутилка от:

MOUNTING FLUID	3 mL флуид за монтиране. Флуидът за монтиране съдържа инхибитор на фотоизбелване в разтвор на глицерол (pH 10,0).
REAGENT	1,4 mL Реактив на теста IMAGEN Chlamydia Реактивът съдържа пречистено мише моноклонално антитяло, специфично за рода Chlamydia, конюгирано с FITC.

5.2. ПОДГОТОВКА, СЪХРАНЯВАНЕ И ПОВТОРНО ИЗПОЛЗВАНЕ НА КОМПОНЕНТИ НА КОМПЛЕКТА

За да се осигури оптимална ефективност на комплекта, е важно всички неизползвани компоненти на комплекта да се съхраняват в съответствие със следните инструкции:

5.3. ПРЕДМЕТНИ СЪТЪКЛА ЗА ПОЛОЖИТЕЛНА КОНТРОЛА - POSITIVE CONTROL SLIDE

Предметните стъкла за положителна контрола се доставят индивидуално опаковани в запечатани фолиеви пликове с азот. Съхранявайте неизползваните предметни стъкла при температура 2 – 8°C. Предметното стъкло трябва да се остави за 5 минути при стайна температура (15 – 30°C) преди отварянето му.

Оцветете предметното стъкло незабавно след отварянето.

5.4. ФЛУИД ЗА МОНТИРАНЕ - MOUNTING FLUID

Готов за употреба. Съхранявайте неизползвания флуид за монтиране при температура 2 – 8°C. Флуидът за монтиране трябва да се остави за 5 минути при стайна температура (15 – 30°C) преди употребата му.

5.5. РЕАКТИВ - REAGENT

Готов за употреба. Съхранявайте неизползвания реактив при температура 2 – 8°C. Реактивът трябва да се остави за 5 минути при стайна температура (15 – 30°C) преди употребата му.

6. ДОПЪЛНИТЕЛНИ РЕАКТИВИ

6.1. РЕАКТИВИ

Пресен ацетон (за фиксация)

Буфериран с фосфат физиологичен разтвор (PBS) pH 7,5 за отмиване на оцветени образци и единични слоеве.

6.2. АКСЕОАРИ

Следните продукти са предназначени за употреба заедно с IMAGEN Chlamydia. Свържете се с местния дистрибутор за допълнителна информация.

Микроскопски стъкла с тефлоново покритие с една ямка с диаметър 6 mm (100 предметни стъкла в кутия) се предлагат от местния дистрибутор (Код № S611430-6).

IMAGEN Chlamydia Positive Control Slides (Код № S610930-2).

7. ОБОРУДВАНЕ

Необходимо е следното оборудване:

Прецизна пипета и върхове за еднократна употреба за отмиване на 25 µL

Вана за отмиване

Покривни стъкла, подходящи за покриване на ямка с диаметър 6 mm

Нефлуоресциращо имерсионно масло

Епифлуоресцентен микроскоп с филтърна система за FITC (максимална дължина на вълната на възбуждане 490 nm, средна дължина на вълната на излъчване 520 nm) и лещи за x200 – x400 и x600 – x1000 увеличения

Инкубатор при температура 37°C с камера за влажност

Нискоооборотна центрофуга

Клетъчна култура

Стерилни тампони и транспортна среда, подходящи за събиране, транспортиране и културиране на хламидия

Линии за клетъчна култура, препоръчвани за изолация на хламидия

8. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

8.1. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ ЗА БЕЗОПАСНОСТ

8.1.1 Реактивът на теста IMAGEN Chlamydia съдържа < 0,1% натриев азид, който е отрова. Натриевият азид може да влезе в реакция с медни и оловни водопроводни тръби и да образува силно експлозивни метални азиди. Винаги изхвърляйте материали, съдържащи азид, чрез промиване с голямо количество вода.

8.1.2 За Chlamydiae на предметното стъкло за положителна контрола е установено, че е неинфекциозна в клетъчна култура, но въпреки това с предметното стъкло трябва да се борави и да се изхвърля като потенциално инфекциозно.

8.1.3 В реактива се съдържа багрило Evans blue. Макар концентрацията, в която се съдържа, да е под концентрацията за класифициране на продукта като канцерогенен, контактът с кожата трябва да бъде избягван.

8.1.4 Трябва да се вземат мерки, когато се използва флуидът за монтиране, тъй като той съдържа известно дразнещо кожата вещество. Макар концентрацията, в която се съдържа, да е под концентрацията за класифициране на продукта като дразнещ, при контакт с кожата тя трябва да се промие с вода.

8.1.5 Реактивът на теста IMAGEN Chlamydia съдържа човешки имуноглобулин. За този материал е установено, че е отрицателен за наличие на антитела на ХИВ, хепатит С и хепатит В повърхностен антиген, но независимо от това, с него трябва да се борави внимателно и да се третира като потенциално инфекциозен.

8.1.6 Не се хранете, не пийте, не пушете, не съхранявайте и не приготвяйте храни и не нанасяйте козметични продукти в предвидените работни зони.

8.1.7 Не пипетирайте материали чрез използване на устата.

8.1.8 Носете ръкавици за еднократна употреба, когато боравите с клинични образци и инфектирани клетки, винаги мийте ръцете си след работа с инфекциозни материали.

8.1.9 Изхвърляйте всички клинични образци в съответствие с местните разпоредби.

8.1.10 Информационните листове за безопасност са на разположение за професионални потребители при поискване.

8.2. ТЕХНИЧЕСКИ ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

8.2.1 Компонентите не трябва да се използват след датата за срок на годност, отпечатана върху етикетите. Не смесвайте и не разменяйте различни партии реактиви.

8.2.2 Реактивите се предоставят във фиксирани работни концентрации. Действието на анализа ще бъде сериозно нарушено, ако реактивите се съхраняват при условия, различни от тези, посочени в раздел 5.

8.2.3 Подгответе пресен буфериран с фосфат физиологичен разтвор (PBS), който е необходим, в деня на използването му.

8.2.4 Измиването в PBS е необходимо. Употребата на други миешки разтвори, като чешмяна вода или дестилирана вода, ще компрометира резултатите от теста.

8.2.5 Избягвайте микробно замърсяване на реактивите.

8.2.6 Реактивът не трябва да бъде замразяван.

9. ВЗЕМАНЕ И ПОДГОТОВКА НА ОБРАЗЦИ^{7,8}

Образци, събрани от уретра на мъже, шийката на матката при жени и от конюнктивата, трябва да съдържат възможно най-много епителни клетки, тъй като Chlamydiae са вътреклетъчни организми, които заразяват епителните повърхности¹.

9.1. КЛИНИЧНИ ОБРАЗЦИ

9.1.1 Образци от уретрален секрет (мъже)

Вземете уретрален секрет, като въведете на 2 – 4 cm в уретрата тънък тампон с връх от алгинат или с памучен връх. Завъртете тампона няколко пъти и изтеглете от уретрата.

9.1.2 Образци от цервикален секрет (жени)

Преди вземането на проба от ендоцервикса, почистете външната част на цервикалния канал със стерилна марля, за да отстраните излишната слюз, кръв/гной и т.н. Вземете секрет от ендоцервикса от приблизително 1 cm в цервикалния канал, като обтриете тампон с връх от алгинат или с памучен връх или с цитологична четка. Завъртете няколко пъти в зоната на трансформация и изтеглете тампона, без да се докосва влагалищната повърхност.

9.1.3 Офталмологични образци

Нанесете локален анестетик на окото, след това открийте горната и долната конюнктивна. Като използвате тампон с памучен връх или връх от Dacron™ енергично обтрийте както горната, така и долната повърхност на конюнктивата, като въртите тампона по време на процеса на вземане на проба, за да сте сигурни, че е взета проба от цялата повърхност на конюнктивата.

9.1.4 Подготовка на предметни стъкла

Завъртете тампона с образца, като приложите лек натиск, в ямката 6 mm на микроскопското стъкло. Уверете се, че за подготвяне на предметното стъкло е използван целият връх на тампона. Изчакайте образца напълно да изсъхне на въздух при стайна температура (15 – 30°C) и след това фиксирайте в пресен ацетон за 10 минути. Изчакайте предметното стъкло да изсъхне на въздух. Ако образецът не е оцветен веднага, можете да го съхранявате при температура 2 – 8°C за една нощ или да го замразите при температура –20°C до 2 месеца.

9.2. ЕДИНИЧНИ СЛОЕВЕ НА КЛЕТЪЧНИТЕ КУЛТУРИ

За развитието на клетъчни култури използвайте установени лабораторни методи за инокулиране и растеж в клетки на McCoy^{9,14,15}.

Отстранете средата от повърхността на единичния слой. Не оставяйте клетките да изсъхнат, тъй като телцата в инклузията може да се спукат. Незабавно фиксирайте единичния слой в пресен метанол за 10 минути, след което внимателно поийте с абсорбираща хартия, за да подсушите.

За най-добри резултати фиксираните единични слоеве трябва да бъдат оцветени и изследвани незабавно.

10. ТЕСТОВА ПРОЦЕДУРА

ВИЖТЕ РАЗДЕЛ 8.2 „ТЕХНИЧЕСКИ ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ“, ПРЕДИ ИЗПЪЛНЯВАНЕТО НА ТЕСТОВАТА ПРОЦЕДУРА.

10.1. ДОБАВЯНЕ НА РЕАКТИВ

Добавете 25 µL реактив върху фиксираната натривка от образца (вижте раздел 9.1), фиксиран единичен слой от клетъчна култура (вижте раздел 9.2) или предметното стъкло за положителна контрола. Уверете се, че реактивът покрива цялата област на ямката.

10.2. ПЪРВО ИНКУБИРАНЕ

Инкубирайте предметните стъкла с реактив в **камерата за влага** за **15 минути** при температура **37°C**. **Не** допускайте реактивът да изсъхне върху образца, тъй като това ще доведе до появяване на неспецифично оцветяване.

10.3. ИЗМИВАНЕ НА ПРЕДМЕТНОТО СЪТЪКЛО

Отмийте излишния реактив с буфериран с фосфат физиологичен разтвор (PBS), след това внимателно измийте предметното стъкло в продължение на 5 минути във вана с разбърквач механизъм, съдържаща PBS. Излейте PBS и оставете предметното стъкло да изсъхне на въздух при стайна температура (15 – 30°C).

10.4. ДОБАВЯНЕ НА ФЛУИД ЗА МОНТИРАНЕ

Капнете една капка флуид за монтиране в центъра на всяка ямка и поставете покривно стъкло върху флуида за монтиране и образца, като се уверите, че няма въздушни мехурчета.

10.5. ОТЧИТАНЕ НА ПРЕДМЕТНОТО СЪТЪКЛО

Изследвайте цялата зона на ямката, съдържаща оцветения образец, като използвате епифлуоресцентен микроскоп. При увеличение x600 – x1000 трябва да се вижда флуоресценция, описана в раздел 11. (За най-добри резултати предметните стъкла трябва да бъдат оцветени и изследвани незабавно).

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ ТЕСТА

11.1. КОНТРОЛИ

11.1.1 Предметни стъкла за положителна контрола

Когато се разглежда, както е описано в раздел 10, предметното стъкло за положителна контрола трябва да показва екстрацелуларни елементарни телца (ЕВ), които изглеждат като много малки ярки ябълковозелени флуоресцентни дискови форми с гладки ръбове с приблизителен диаметър 300 nm. ЕВ могат да се наблюдават на фона на контрастно оцветени червени клетки и клетъчни остатъци. Могат да бъдат забелязани други хламидиални форми, които са 2 – 3 пъти по-големи от ЕВ, някои от които флуоресцират равномерно или имат тъмни центрове, заобиколени от ореол от ябълковозелена флуоресценция. Това могат да бъдат междинни форми на хламидия или ретикулатни телца. Понякога могат да се наблюдават големи ярко флуоресцентни непокътнати интрацитоплазмени хламидиални инклузии.

11.1.2 Отрицателна контрола

Ако се изисква отрицателна контрола, се препоръчват неинфектирани интактни или руптурирали клетки от типа, използван за културата, и изолиране на хламидия. Клетките трябва да бъдат подготвени и фиксирани, както е описано в раздел 9.2, и да бъдат оцветени, както е описано в раздел 10.

11.2. КЛИНИЧНИ ОБРАЗЦИ

11.2.1 Външен вид на хламидиални телца

Екстрацелуларни елементарни телца са най-често срещаната форма на Chlamydia в клинични образци и изглеждат като ярки ябълковозелени телца с гладки ръбове с диаметър приблизително 300 nm, както е описано в раздел 11.1.1.

11.2.2 Интерпретация на резултатите

Положителна диагноза се поставя, когато фиксирани оцветени образци показват поне 10 хламидиални телца. Това ниво се препоръчва, за да се намалят фалшивите положителни резултати поради погрешно интерпретиране на неспецифична флуоресценция. Контрастно оцветени клетки трябва да се виждат в ямка, преди да се докладват отрицателни резултати. Тези клетки може да бъдат интактни или руптурирали цилиндрични и плоски епителни клетки или случайни полиморфонуклеарни левкоцити. Липсата на клетъчен материал може да показва лошо качество на събирането на образци и се препоръчва повторно събиране на образци.

11.2.3 Неспецифична флуоресценция

Материал с неправилна форма, който се различава по морфология от хламидиалните телца, описани в раздел 11.1.1., които флуоресцират в бяло, червено или жълто, а не в ябълковозелено, трябва да се счита за неспецифично оцветяване.

11.3. ПОТВЪРЖДЕНИЕ С КЛЕТЪЧНА КУЛТУРА

11.3.1 Външен вид на хламидиални инклузии

Интрацелуларни инклузии на хламидия изглеждат ярки ябълковозелени сакове в цитоплазмата на инфектирани клетки. Една инклузия може да заема 75% от цитоплазмата на клетката гостоприемник.

11.3.2 Интерпретация

Положителна диагноза се поставя, когато една или повече оцветени интрацелуларни инклузии на хламидия се наблюдава в единичния слой.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ НА ДЕЙСТВИЕТО

12.1. Визуалното представяне на полученото флуоресцентно изображение може да е различно в зависимост от типа на микроскопа и използвания източник на светлина.

12.2. Използвайте само предоставения флуид за монтиране.

12.3. Препоръчва се да се използва 25 µL реактив за покриване на област на ямка с диаметър 6 mm. Редуциране на този обем може да доведе до затруднения при покриване на зоната на образца и може да намали чувств

- 12.6. Системите за откриване на антигени, като IMAGEN Chlamydia, не трябва да се използват за предоставяне на информация за съдебно-медицински случаи. Само стандартни хламидийни култури трябва да се използват при подозрения за злоупотреба или в други ситуации, при които възможността за фалшив положителен резултат със системи за откриване на антиген е неприемлива¹¹.
- 12.7. Наличието на хламидия в клинични проби не изключва непременно възможността за съпътстваща инфекция с други патогени. Резултатите от тестовите трябва да се интерпретират във връзка с наличната информация от епидемиологични проучвания, клинична оценка на пациента и други диагностични процедури.

13. ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Разпространението на хламидийни инфекции в изследваната популация ще варира в зависимост от типа на изследваната популация^{1,2}. Разпространението на уrogenитална хламидийна инфекция при неподбрани пациенти, посещаващи медицинска клиника за уrogenитални заболявания, ще варира между 10% до 25%. При пациентите, лекувани с неспецифичен уретрит и постгонококов уретрит, разпространението може да достигне от 30% до 60%.

По-слабо разпространение на уrogenитална хламидийна инфекция (по-малко от 10%) може да се установи в популации от пациенти, посещаващи акушеро-гинекологични клиники^{1,12}.

Разпространението на офталмологични хламидийни инфекции може да варира между 5% и 20% при проучвания на паратрахома (конюнктивит с включвания)^{1,9}.

14. РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА РЕАКТИВНОСТ

14.1. СПЕЦИФИЧНОСТ НА МОНОКЛОНАЛНОТО АНТИТЯЛО

Установено е, че моноклоналното антиляло, използвано в реактива на IMAGEN Chlamydia, реагира с епитоп на хламидиален липополизахариден антиген, общ за всички щамове на хламидия.

Понякога се наблюдава неспецифично оцветяване при имунохимично оцветяване поради свързване между Fc регионите на антилялото и протеин А, продуциран от някои щамове на *Staphylococcus aureus*. Реактивът на IMAGEN Chlamydia е създаден така, че да намаля такова свързване.

14.2. КЛИНИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ¹³

14.2.1 Уrogenитални образци

Проведени са клинични изпитвания в два външни центъра за оценка на работните характеристики на реактива на IMAGEN Chlamydia с преработена формула (съдържа човешки IgG в концентрация 1 mg/ml) за откриване на *C. trachomatis* от уриногенитални проби. Направено е сравнение на работните характеристики между реактива на IMAGEN Chlamydia, който е бил на пазара по това време (без човешки IgG) и нормална клетъчна култура за *C. trachomatis*.

117 образеца (77 от мъже и 40 от жени) са тествани в Център 1 и 100 образеца (39 от мъже и 61 от жени) в Център 2. За всички образци е вземан секрет само с един тампон. Образецът от половината от тампона е натрит върху предметно стъкло с 8 mm единична ямка. Тампонът след това е поставен в транспортна среда за култура на хламидия. Тези предметни стъкла са фиксирани по описания в листовката с продуктова информация начин и след това ямката е разделена на две, като е използвана тънка линия от безцветен лак за нокти. Обем от 10 µl от подходящ реактив IMAGEN (с преработена формула или със стария състав) се добавя към съответната половина на ямката. Всички други стъпки са изпълнени в съответствие с листовката с продуктова информация. Една проба е оценявана като положителна, ако бъдат забелязани десет или повече елементарни телца. При клетъчните култури – обработените с цитохалазин В единични слоеве на клетки на McCoу се оцветяват по Giemsa и се наблюдават чрез микроскопия на тъмно поле.

Чувствителността, специфичността и прогнозните стойности са изчислени, като е прието, че клетъчната култура е 100% чувствителна и специфична. Съответната чувствителност, специфичност и корелация на тестовите са показани по-долу.

Таблица 14.2.1А. Сравнение на реактива на IMAGEN Chlamydia с преработена формула и клетъчна култура.

		Пациенти от мъжки пол		Пациенти от женски пол		Комбинирани данни	
		Клетъчна култура		Клетъчна култура		Клетъчна култура	
		+	-	+	-	+	-
Реактив с преработена формула – Център 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Реактив с преработена формула – Център 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ положителен

– отрицателен

Таблица 14.2.1В. Работни характеристики на реактива на IMAGEN Chlamydia с преработена формула спрямо реактива с предходната (стара) формула.

		Преработена формула		Стара формула	
		Необработена стойност	%	Необработена стойност	%
Център 1	Чувствителност	15/16	93,8%	15/16	93,8%
	Специфичност	101/101	100%	101/101	100%
	Корелация с култура	116/117	99,1%	116/117	99,1%
	Положителна прогнозна стойност	15/15	100%	15/15	100%
	Отрицателна прогнозна стойност	101/102	99,0%	101/102	99,0%
Център 2	Чувствителност	16/19	84%	17/19	89%
	Специфичност	80/81	99%	76/81	94%
	Корелация с култура	96/100	96%	93/100	93%
	Положителна прогнозна стойност	16/17	94%	17/22	77%
	Отрицателна прогнозна стойност	80/83	96%	76/78	97%

14.2.2 Офталмологични образци

Тестът IMAGEN Chlamydia е оценен в стандартна диагностична лаборатория спрямо установена система с клетъчна култура (оцветяване по Giemsa на предварително третирани единични слоеве на клетки на McCoу след първоначално културиране с образци).

Образци от конюнктивален ексудат са събрани от 178 пациента с остър фоликуларен конюнктивит, посещаващи очна болница; 163 са на възраст 13–55 години, 3 са бебета (10 седмици – 12 месеца) и 12 са новородени (12 дни – 4 седмици). Честотата на хламидийната инфекция в популационната група, от която са взети образци, е 8%. Направени са натривки от тампоните с образците в клиниката и след тампоните са поставени в транспортна среда за оценка на клетъчна култура.

Един образец е оценяван като положителен при теста IMAGEN Chlamydia, когато са наблюдавани 10 или повече флуоресциращи телца (вижте раздел 11.2.2). Един образец е оценяван като положителен при теста с клетъчна култура, когато са наблюдавани поне една оцветена интрацитоплазмена инклузия.

Резултатите от това изпитване са показани в таблица 14.2. От 178 тествани образеца, един и същ резултат е получен при изследване по двата метода в 174 случая и корелация 98%. Чувствителността и специфичността на теста IMAGEN Chlamydia е 100% и 97,5% съответно, като се е приело, че методът на тестване с клетъчна култура е с чувствителност и специфичност 100%. Прогнозните стойности за положителните и отрицателните тестове са съответно 79% и 100%.

Таблица 14.2 Сравнение на резултатите от теста с клетъчна култура и тест IMAGEN Chlamydia върху офталмологични проби

ТЕСТ	РЕЗУЛТАТ			
Клетъчна култура	Отрицателна	Положителна	Положителна	Отрицателна
IMAGEN Chlamydia	Отрицателна	Положителна	Отрицателна	Положителна
Брой образци	159	15	0	4*

* Тези образци са събрани от пациенти, подложени на антибиотична терапия. Тя може да е компрометирала резултата от клетъчната култура⁹.

14.2.3 Потвърждение с клетъчна култура

Тестът IMAGEN Chlamydia е оценен като тест за потвърждение с култура спрямо 2 рутинно използвани потвърдителни процедури за оцветяване на култури (оцветяване по Giemsa и йод). Всеки от 132-те уrogenитални образеца се инокулира върху 3 единични слоя с покривно стъкло, третирани с йододезоксиуридин клетки на McCoу (еднослойна клетъчна култура). Инокуираните единични слоеве са инкубирани при температура 37°С за 48 до 72 часа, след което са фиксирани в метанол за 10 минути.

Фиксираните единични слоеве се оцветяват или по Giemsa, или с йод, или с реактива на теста IMAGEN Chlamydia. Един образец е оценяван като положителен, когато под микроскоп е наблюдавана поне една оцветена интрацитоплазмена инклузия.

Резултатите от това изпитване са показани в таблица 14.3. От 132 тествани образеца 56 (42%) са развили инклузивни телца. При оцветяването с йод е открита хламидия при 46 от тези образци, при оцветяване по Giemsa – в 49 образеца и с теста IMAGEN Chlamydia – в 56 образеца.

Таблица 14.3 Сравнение на методите за оцветяване за откриване на хламидиални инклузии в еднослойна клетъчна култура

ТЕСТ	РЕЗУЛТАТ				
IMAGEN Chlamydia	Положи-телна	Отрица-телна	Положи-телна	Положи-телна	Положи-телна
Оцветяване по Giemsa	Положи-телна	Отрица-телна	Отрица-телна	Положи-телна	Отрица-телна
Оцветяване с йод	Положи-телна	Отрица-телна	Отрица-телна	Отрица-телна	Положи-телна
Брой образци	42	76	3	7	4

14.3. КРЪСТОСАНА РЕАКТИВНОСТ

Установено е, че моноклоналното антиляло, използвано в IMAGEN Chlamydia, не реагира на следните микроорганизми.

<i>Acinetobacter calcoaceticus var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> (използван 0124)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae подвид Equisimilis</i>

Херпес симплекс вирус
Klebsiella aerogenes

Също така не се очаква кръстосана реактивност с видовете Mycoplasma и Ureaplasma.

15. РЕЗЮМЕ НА БЕЗОПАСНОСТТА И ДЕЙСТВИЕТО

Резюмето на безопасността и действието (SSP) за това изделие е/ще бъде достъпно в европейската база данни за медицински изделия (Eudamed, https://ec.europa.eu/tools/eudamed), където е свързано сбазовия UDI-DI на изделието (5032384ImagenChlamydiaW7).

16. БИБЛИОГРАФИЯ

1. **Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
2. **Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J. 5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
3. **Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
4. **Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.

5. **Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
6. **Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
7. **Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
8. **Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
9. **Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681
10. **Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.

11. **CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39**: 932-935.
12. **Chlamydial Infections (1986)**
Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.
From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.
13. **Galen, R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
14. **Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92-5
15. **Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.
Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, no. 3, 977-986

CE

2797

Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Обединено кралство

За всякакви въпроси, моля, свържете се с местния дистрибутор. www.thermofisher.com

Версия	Въведена дата на промените
X7847C	Юни 2023 г. Актуализации с цел изпълняване на изискванията на IVDR

Отпечатано в Обединеното кралство

 Nøglekode TSMX7847C www.oxid.com/ifu	
Europa +800 135 79 135	USA 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539	Resten af verden +31 20 794 7071

IMAGEN™ Chlamydia

REF	K610111-2	▽ 50
------------	-----------------	--------------------------------

1. TILSIGTET BRUG

IMAGEN™ Chlamydia-testen er en kvalitativ immunfluorescensanalyse til påvisning og identifikation af Chlamydia-antigen direkte fra kliniske prøver (humane urogenitale og oftalmiske prøver) eller som bekræftelse efter vækst i cellekultur. Anvendes i en diagnostisk arbejdsgang til at hjælpe klinikere med behandlingsmuligheder for patienter, der mistænkes at have Chlamydia-infektion. Enheden er ikke automatiseret, er kun til professionel brug og er ikke en ledsagende diagnostik.

IVD - Til *in vitro*-diagnostisk brug. Kun til professionel brug.

2. OVERSIGT

Chlamydiae er obligate intracellulære parasitter, som er tæt beslægtet med gramnegative bakterier¹. Slægten Chlamydia indeholder tre kendte arter *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) og *Chlamydia pneumoniae* (*TWAR*).

Chlamydiaes livscyklus er kompleks, men to hovedstrukturer er anerkendt, det infektiøse elementære legeme og det retikulerede legeme. Infektion af en celle initieres ved, at det elementære legeme hæfter sig til værtscelleoverfladen og kommer ind i cellen ved endocytose. Det elementære legeme forstørres inden i vakuolen, som dannes af værtscellemembranen, og differentierer til dannels af et retikuleret legeme. Det retikulerede legeme beskæftiger sig udelukkende med multiplikationen af Chlamydiae og deler sig ved binær fission ved at udnytte værtscellens energiforsyning. Omtrent 24 timer efter infektion differentieres de retikulerede legemer inden for den ekspanderende inklusion til at danne elementære legemer. Den replikative cyklus varer 48-72 timer og afsluttes med inklusionsbrud og frigivelse af elementære legemer. En moden inklusion kan indeholde ca. 10⁴ elementære Chlamydia-legemer og optage 75 % af værtscellevolumenet.

C. trachomatis er blevet anerkendt som en hyppig årsag til seksuelt overførte sygdomme^{1,2} og har vist sig at forårsage en række infektioner hos mennesker, hvoraf nogle kan være asymptomatiske.

Hos voksne kan *C. trachomatis* også forårsage akut eller subakut follikulær konjunktivitis, som kan udvikle sig til en punkteret keratitis. Lejlighedsvis kan der udvikles ardannelse og endemisk trakom. De fleste af disse symptomer udvikler sig hos patienter, som har uerkendte kønsinfektioner^{1,3}. Ophthalmia neonatorum er også en komplikation fundet hos børn født af en inficeret mor.

Anatomiske lokaliteter, hvorfra der normalt udtages prøver til diagnosticering af Chlamydia, omfatter bindehinden, endocervix og urinrøret. Hos mænd, især unge og asymptomatiske mænd, der er undersøgt efter opfølgende kontaktsporing, er invasiv urethral podning muligvis ikke mulig. I sådanne tilfælde er indsamling af spoturinprøver og undersøgelse af den centrifugerede aflejrning blevet foreslået⁴. Luftvejsprøver (f.eks. sputum) er også blevet undersøgt direkte for påvisning af *C. psittaci* og *C. pneumoniae* i undersøgelsen af luftvejsinfektioner^{5,6}.

Aktuelt er der 3 primære diagnostiske metoder, der anvendes til påvisning af Chlamydia i kliniske prøver. For det første ved isolering af organismen og visualisering, hvor levedygtige elementære legemer i kliniske prøver inficerer vævskulturceller, og de resulterende inklusioner detekteres ved farvningsteknikker, f.eks. jod eller immunfluorescens. For det andet ved direkte påvisning af Chlamydia i kliniske prøver under anvendelse af et fluorescein-mærket monoklonalt antistof. For det tredje ved enzymimmunoassay for at bestemme tilstedeværelsen af Chlamydia-antigen i kliniske prøver⁷.

Direkteimmunfluorescenteknikker,deranvenderfluorescein-mærkede monoklonale antistoffer^{8,9,10} har vist sig at have god korrelation sammenlignet med celledyrkningsteknikker til påvisning af *C. trachomatis*.

IMAGENChlamydia-testenerendirekteimmunfluorescenstest til påvisning og identifikation af Chlamydiae i kliniske prøver eller celledyrkninger. Testen anvender et slægtsspecifikt monoklonalt antistof mod Chlamydia lipopolysaccharid-antigen, der findes i alle kendte stammer af Chlamydiae.

3. TESTENS PRINCIP

IMAGEN Chlamydia-testreagenset indeholder fluorescein-isothiocyanat (FITC) konjugeret monoklonalt antistof. Det slægtsspecifikke monoklonale antistof vil påvise elementære legemer fra alle kendte humane serovarer af *C. trachomatis* såvel som stammer af *C. psittaci* og *C. pneumoniae*.

Det konjugerede antistof anvendes i en ettrins direkte immunfluorescenteknik. Prøverne inkuberes med det FITC-konjugerede reagens i 15 minutter. Overskydende reagens fjernes derefter ved vask med fosfatbufret saltvand (PBS), de farvede områder monteres og visualiseres ved hjælp af epifluorescensbelysning. Hvis Chlamydia er til stede i den kliniske prøve, vil de blive set som lyse æblegrønne fluorescerende elementære legemer, der kontrasterer mod baggrunden af modfarvet materiale. Inficerede cellekulturmonolag farvet med det FITC-konjugerede monoklonale antistof vil indeholde lyse æblegrønne intracytoplasmatiske Chlamydia-inklusioner, der kontrasterer mod baggrunden af modfarvet cellulært materiale.

Anerkendelse

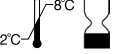
Det monoklonale antistof stammer fra Department of Pathology, University of Cambridge, Cambridge, Storbritannien og Division of Communicable Diseases, Clinical Research Centre, Harrow, Middlesex, Storbritannien.

4. DEFINITIONER

Følgende symboler er blevet brugt i produktinformationen.

REF	Katalognummer
IVD	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostisk brug
	Se brugervejledningen (Instructions for Use – IFU)
	Temperaturgrænser (opbevaringstemp.)
▽ _N	Tilstrækkeligt indhold til <N> test
	Ikke til nærpatienttest
	Må ikke genanvendes
LOT	Batchkode (partinummer)
	Skal anvendes inden (udløbsdato)
	Importør
UDI	Unik enhedsidentifikator
EC REP	Autoriseret repræsentant i EU
	Europæisk overensstemmelseserklæring
	Producent

5. MEDFØLGENDE REAGENSER



Hvert sæt indeholder tilstrækkelige materialer til at teste 50 celledyrkningspræparater. Holdbarheden af sættet er som angivet på den ydre etiket.

Brug ikke enheden i tilfælde af funktionsfejl.

Alvorlige hændelser

Alle alvorlige hændelser, der måtte opstå med relation til brugen af udstyret, skal indrapporteres til producenten og til den kompetente myndighed i det medlemsland, hvor brugeren og/eller patienten opholder sig.

5.1. IMAGEN Chlamydia-REAGENSER

	Brugervejledning
POSITIVE CONTROL SLIDE	2x1-brønds positivt kontrolglas indeholdende acetonefikserede musebindevævsceller (L929) inficeret med L ₁ -stamme af <i>C. trachomatis</i> .

En flaske af hvert af følgende:

MOUNTING FLUID	3 mL Mounting Fluid. Mounting Fluid indeholder en fotoblegningsinhibitor i en glycerolopløsning (pH 10,0).
REAGENT	1,4 mL IMAGEN Chlamydia-testreagens. Reagenset indeholder oprenset murint monoklonalt antistof specifikt for slægten Chlamydia konjugeret til FITC.

5.2. FORBEREDELSE, OPBEVARING OG GENBRUG AF SÆTTETS KOMPONENTER

For at sikre optimal kitydelse er det vigtigt, at alle ubrugte komponenter fra sættet opbevares i henhold til følgende instruktioner:

5.3. POSITIVE KONTROLOBJEKTGLAS – **POSITIVE CONTROL SLIDE**
Positive kontrolobjektglas leveres individuelt i forseglede folieposer med nitrogen. Opbevar ubrugte objektglas ved 2-8 °C. Objektglasset stå i 5 minutter ved stuetemperatur (15-30 °C), før det åbnes.

Farv objektglasset umiddelbart efter åbning.

5.4. MONTERINGSVÆSKE – MOUNTING FLUID

Klar til brug. Opbevar ubrugt monteringsvæske ved 2-8 °C. Monteringsvæsken skal stå ved stuetemperatur (15-30 °C) i 5 minutter før brug.

5.5. REAGENS - REAGENT

Klar til brug. Opbevar ubrugt reagens i mørke ved 2-8 °C. Reagenset skal stå ved stuetemperatur (15-30 °C) i 5 minutter før brug.

6. YDERLIGERE REAGENSER

6.1. REAGENSER

Frisk acetone (til fiksering)

Fosfatbufret saltvand (PBS) pH 7,5 til vask af farvede prøver og monolag.

6.2. TILBEBØR

Følgende produkter er beregnet til brug sammen med IMAGEN Chlamydia. Kontakt din lokale forhandler for yderligere oplysninger.

Teflonbelagte mikroskopobjektglas med enkelt brønd med en 6 mm diameter (100 objektglas pr. æske) fås hos din lokale distributør (kodenummer S611430-6).

IMAGEN Chlamydia Positive Control Slides (kodenr. S610930-2).

7. UDSTYR

Der kræves følgende udstyr:

Præcisionspipette og engangsspidser til at levere 25 µL

Vaskebad

Dækglas, der kan dække en brønd med en 6 mm diameter

Ikke-fluorescerende immersionsolie

Epifluorescensmikroskop med filtersystem til FITC (maksimal excitationsbølgelængde 490 nm, middel emissionsbølgelængde 520 nm) og linser til x200-x400 og x600-x1000 forstørrelse

Inkubator ved 37 °C med et fugtkammer

Centrifuge, der kan køre med lav hastighed

Celledyrkning

Sterile podepinde og transportmedie velegnet til indsamling, transport og dyrkning af Chlamydiae

Celledyrkningslinjer anbefales til isolering af Chlamydia

8. FORHOLDSREGLER

8.1. SIKKERHEDSREGLER

8.1.1 IMAGEN Chlamydia-testreagenset indeholder <0,1 % natriumazid, som er en gift. Natriumazid kan reagere med kobber- og blyrørsystemer og danne eksplosive metalazider. Bortskaf altid materialer, der indeholder azid, ved at skylle med store mængder vand.

8.1.2 Chlamydiae på det positive kontrolglas har vist sig at være ikke-infektiøse i cellekultur, dog skal objektglasset håndteres og bortskaffes, som om det var potentielt infektiøst.

8.1.3 Evans blå farvestof er til stede i reagenset. Selvom det er til stede under koncentrationen for, at produktet skal klassificeres som kræftfremkaldende, bør kontakt med huden undgås.

8.1.4 Der skal udvises forsigtighed ved brug af monteringsvæsken, da den indeholder et stof, der vides at irritere huden. Selvom det er til stede under koncentrationen for, at produktet kan klassificeres som hudirriterende, skal huden skylles med vand, hvis der opstår kontakt.

8.1.5 IMAGEN Chlamydia-testreagenset indeholder humant immunglobulin. Dette materiale har vist sig at være negativt for tilstedeværelsen af antistof mod HIV-, Hepatitis C- og Hepatitis B-overfladeantigen, ikke desto mindre skal det håndteres med forsigtighed og behandles som potentielt smitsomt.

8.1.6 Spis, drik, ryg, opbevar eller tilbered ikke mad og påfør ikke kosmetik inden for det udepegede arbejdsområde.

8.1.7 Materialerne må ikke afpipetteres med munden.

8.1.8 Bær engangshandsker, mens du håndterer kliniske prøver og inficerede celler, og vask altid hænder efter arbejde med infektiøse materialer.

8.1.9 Bortskaf alle kliniske prøver i overensstemmelse med lokal lovgivning.

8.1.10 Sikkerhedsdataark fås til professionelle brugere på anmodning.

8.2. TEKNISKE FORHOLDSREGLER

8.2.1 Komponenter må ikke bruges efter den udløbsdato, der er trykt på etiketterne. Bland eller udskift ikke forskellige batches/lots af reagenser.

8.2.2 Reagenserne leveres i faste arbejdskoncentrationer. Analysens ydeevne vil blive negativt påvirket, hvis reagenserne opbevares under andre forhold end dem, der er beskrevet i afsnit 5.

8.2.3 Klargør frisk Phosphate Buffered Saline (PBS) efter behov på brugsdagen.

8.2.4 Vask i PBS er nødvendig. Brug af andre vaskeopløsninger såsom postevand eller destilleret vand vil kompromittere testresultaterne.

8.2.5 Undgå mikrobiel kontaminering af reagenserne.

8.2.6 Reagenserne må ikke fryses.

9. INDSAMLING OG KLARGØRING AF PRØVER^{7,8}

Prøver indsamlet fra det mandlige urinrør, kvindens livmoderhals og fra bindehinden skal indeholde så mange epitelceller som muligt, da Chlamydiae er intracellulære organismer, der inficerer epiteloverflader¹.

9.1. KLINISKE PRØVER

9.1.1 Urinrørsprøver (fra mænd)

Pod urinrøret ved at indsætte en tynd podepind med alginat- eller vatspids 2-4 cm ind i urinrøret. Drej podepinden flere gange, og træk den ud af urinrøret.

9.1.2 Cervixprøver (kvinder)

Før prøvetagning af endocervix rengøres livmoderhalsen med steril gaze for at fjerne overskydende slim, blod/pus osv. Pod endocervix ved at bruge podepind med alginat- eller vatspids eller en cytologibørste ca. 1 cm ind i livmoderhalsen. Roter flere gange ved overgangen mellem plade- og søjleepitel, og træk podepinden ud uden at røre vaginale overflader.

9.1.3 Oftalmiske prøver

Påfør lokalbedøvelse på øjet, eksponer derefter øvre og nedre bindehinde. Brug en podepind med bomulds- eller Dacron™ spids til at tørre både øvre og nedre konjunktivale overflader kraftigt af, og drej podepinden under prøvetagningsprocessen for at sikre, at hele konjunktivoverfladen udtages.

9.1.4 Klargøring af objektglas

Rul prøvepodepinden let inden for 6 mm-brøndområdet på objektglasset. Sørg for, at hele podepinden bruges ved klargøring af objektglasset. Lad prøven lufttørre grundigt ved stuetemperatur (15-30 °C), og fiksér den derefter i frisk acetone i 10 minutter. Lad objektglasset lufttørre. Hvis prøven ikke farves, skal den straks stilles til opbevaring ved 2-8 °C natten over eller fryses ved -20 °C i op til 2 måneder.

9.2. MIKROPLADER TIL CELLEDYRKNING

Anvend velafprøvede laboratoriemetoder til inokulering og vækst i McCoy-celler^{9,14,15}.

Fjern mediet fra overfladen af monolaget. Lad ikke cellerne tørre, da inklusionslegemerne kan briste. Monter straks monolag i frisk methanol i 10 minutter, og tør derefter forsigtigt tørt med duppepapir.

For at opnå de bedst mulige resultater bør faste monolag farves og undersøges med det samme.

10. TESTFREMGANGSMÅDE

SE AFSNIT 8.2 TEKNISKE FORHOLDSREGLER, FØR DU UDFØRER TESTPROCEDUREN.

10.1. TILSÆTNING AF REAGENSER

Tilsæt 25 µL reagens i den fikserede prøveudstrygning (se afsnit 9.1), det fikserede celledyrkningsmonolag (se afsnit 9.2) eller det positive kontrolobjektglas. Sørg for, at reagenset dækker hele brøndområdet.

10.2. FØRSTE INKUBATION

Inkuber objektglassene med reagens i et **fugtkammer i 15 minutter ved 37 °C**. **Lad ikke** reagenset tørre på prøven, da dette vil forårsage uspecifik farvning.

10.3. VASK AF OBJEKTGLASSET

Vask overskydende reagens af med Phosphate Buffered Saline (PBS), og vask derefter forsigtigt objektglasset i et omrøringsbad indeholdende PBS i 5 minutter. Dræn PBS af, og lad objektglasset lufttørre ved stuetemperatur (15-30 °C).

10.4. TILSÆTNING AF MONTERINGSVÆSKE

Tilsæt en dråbe monteringsvæske i midten af hver brønd, og anbring et dækglas over monteringsvæsken og prøven, og sørg for, at der ikke er luftbobler under det.

10.5. AFLÆSNING AF OBJEKTGLASSET

Undersøg hele brøndområdet, der indeholder den farvede prøve, ved hjælp af et epifluorescensmikroskop. Fluorescens, som beskrevet i afsnit 11, bør være synlig ved en forstørrelse på 600-1000 gange. (For at opnå de bedst mulige resultater bør objektglassene farves og undersøges med det samme).

11. FORTOLKNING AF TESTRESULTATERNE

11.1. KONTROLLER

11.1.1 Positive kontrolobjektglas

Når det betragtes som beskrevet i afsnit 10, skal det positive kontrolglas vise ekstracellulære elementære legemer (EB'er), der fremstår som meget små klare æblegrønne fluorescerende glatkantede skiver med en diameter på ca. 300 nm. EB'er kan observeres mod en baggrund af røde modfarvede celler og cellerester. Der kan observeres andre Chlamydia-former, som er 2-3 gange større end EB'er, hvoraf nogle fluorescerer jævnt eller har mørk midte omgivet af en ring af æblegrøn fluorescens. Disse kan være mellemformer af Chlamydia eller retikulerede legemer. Lejlighedsvis kan der observeres store lyst fluorescerende intakte intracytoplasmatiske Chlamydia-inklusioner.

11.1.2 Negativ kontrol

Hvis en negativ kontrol er påkrævet, anbefales uinficerede intakte eller sprængte celler af en type, der anvendes til dyrkning og isolering af Chlamydia. Cellerne skal klargøres og fikseres som beskrevet i afsnit 9.2 og farves som beskrevet i afsnit 10.

11.2. KLINISKE PRØVER

11.2.1 Udseende af Chlamydia-legemer

Ekstracellulære elementære legemer er den mest almindelige form for Chlamydia i kliniske prøver og fremstår som lyse æblegrønne, glatkantede legemer med en diameter på ca. 300 nm som beskrevet i afsnit 11.1.1.

11.2.2 Fortolkning af resultater

En positiv diagnose stilles, når fikserede, farvede prøver viser mindst 10 Chlamydial-legemer. Dette niveau anbefales for at reducere falsk positive resultater på grund af fejlfortolkning af uspecifik fluorescens. Modfarvede celler skal være synlige i en brønd, før negative resultater rapporteres. Disse celler kan være intakte eller sprængte søjle- og pladeepitelceller eller lejlighedsvis polymorfonukleære leukocytter. Fraværet af cellulært materiale kan indikere dårlig kvalitet af prøvetagningen, og det anbefales at tage en ny prøve.

11.2.3 Uspecifik fluorescens

Uregelmæssigt formet materiale, som adskiller sig morfologisk fra de Chlamydia-legemer, der er beskrevet i afsnit 11.1.1., som fluorescerer hvidt, rødt eller gult frem for æblegrønt, bør betragtes som uspecifik farvning.

11.3. BEKRÆFTELSE AF CELLEDYRKNING

11.3.1 Udseende af Chlamydia-inklusioner

Intracellulære Chlamydia-inklusioner fremstår som lyse æblegrønne sække i cytoplasmaet af inficerede celler. En inklusion kan optage op til 75 % af værtscellens cytoplasma.

11.3.2 Fortolkning

En positiv diagnose stilles, når en eller flere farvede intracellulære Chlamydia-inklusioner observeres i monolaget.

12. BEGRÆNSNINGER MED HENSYN TIL RESULTATER

12.1. Det visuelle udseende af det opnåede fluorescensbillede kan variere på grund af det anvendte type mikroskop og den anvendte lyskilde.

12.2. Brug kun den medfølgende monteringsvæske.

12.3. Det anbefales, at der bruges 25 µL reagens til at dække et brøndområde med en diameter på 6 mm. En reduktion i dette volumen kan føre til vanskeligheder med at dække prøveområdet og kan reducere sensitiviteten.

12.4. Alle reagenserne leveres i faste arbejdskoncentrationer. Testens ydeevne kan blive påvirket, hvis reagenserne modificeres på nogen måde eller ikke opbevares under de anbefalede forhold, som beskrives i afsnit 5.

12.5. Manglende påvisning af Chlamydia i cellekultur kan være et resultat af faktorer såsom prøvetagning på et uhensigtsmæssigt sygdomstidspunkt, forkert prøveudtagning og/eller håndtering af prøve, svigt af cellekultur osv. Et negativt resultat udelukker ikke muligheden for Chlamydia-infektion.

12.6. Antigendetektionssystemer såsom IMAGEN Chlamydia må ikke bruges som informationskilde til lægefaglige søgsmål. Der må kun anvendes standard-Chlamydia-kulturer i evalueringen af formodet misbrug eller andre situationer, hvor muligheden for et falsk positivt resultat med antigen detektionssystemer er uacceptabel¹¹.

12.7. Tilstedeværelsen af Chlamydia i kliniske prøver udelukker ikke nødvendigvis muligheden for samtidig infektion med andre patogener. Testresultater bør fortolkes i sammenhæng med tilgængelige oplysninger fra epidemiologiske undersøgelser, klinisk vurdering af patienten og andre diagnostiske procedurer.

13. FORVENTEDE VÆRDIER

Prævalensen af Chlamydia-infektioner i en undersøgelsespopulation vil variere afhængigt af den undersøgte populationstype^{1,2}. Prævalensen af urogenital Chlamydia-infektion for ikke-selekerede patienter, der går på en genital-urinmedicinsk klinik, vil variere mellem 10 % og 25 %. Hos patienter med uspecifik urethritis og post-gonokok urethritis kan prævalensen være op til 30 % til 60 %.

En lavere prævalens af uro-genital Chlamydia-infektion (mindre end 10 %) kan findes i populationer af patienter, der behandles på obstetriske og gynækologiske klinikker¹⁻¹².

Prævalensen af oftalmiske Chlamydia-infektioner kan variere mellem 5 % og 20 % i undersøgelser af paratrachoma (inklusionskonjunktivitis)^{1,9}.

14. YDELSESKARAKTERISTIKA FOR REAKTIVITET

14.1. DET MONOKLONALE ANTISTOFS SPECIFICITET

Det monoklonale antistof, der anvendes i IMAGEN Chlamydia-reagens, har vist sig at reagere med en epitop af Chlamydielt lipopolysaccharid-antigen, der er fælles for alle stammer af Chlamydia.

Uspecifik farvning ses nogle gange ved immunokemisk farvning på grund af binding mellem antistof Fc-regioner og protein A, der produceres af nogle stammer af *Staphylococcus aureus*. IMAGEN Chlamydia-reagenset er udviklet til at reducere en sådan binding.

14.2. KLINISK YDELSE¹³

14.2.1 Urogenitale prøver

Der blev foretaget kliniske forsøg på to eksterne centre med henblik på at vurdere ydeevnen af det omformulerede IMAGEN Chlamydia-reagens (indeholder humant IgG ved 1 mg/ml) til påvisning af *C. trachomatis* fra urinogenitale prøver. Ydeevnen blev sammenlignet med både IMAGEN Chlamydia-reagenset, som var på markedet på det tidspunkt (intet humant IgG) og rutinemæssig celledyrkning for *C. trachomatis*.

117 prøver (77 fra mænd og 40 fra kvinder) blev testet på center 1 og 100 prøver (39 fra mænd og 61 fra kvinder) på center 2. Med alle prøverne blev der kun taget én podning. Halvdelen af podedipinden blev rullet ned på et 8 mm enkeltbrøndsglas. Podedipinden blev derefter anbragt i Chlamydia-dyrkningstransportmedium. Objektglassene blev fikseret som beskrevet i produktinformationsfolderen, og derefter blev brønden delt i to ved hjælp af en tynd streg farveløs neglelak. Et 10 µl volumen af passende IMAGEN-reagens (omformuleret eller gammel formulering) blev tilsat i den relevante halvdel af brønden. Alle andre trin blev udført i henhold til produktindlægssedlen. En prøve blev scoret positiv, hvis der blev observeret ti eller flere elementære legemer. Til celledyrkning blev Cytochalsin B-behandlede McCoy-cellemonolag farvet af Giemsa og observeret ved mikroskopi på mørk baggrund.

Sensitivitet, specificitet og prædiktive værdier blev beregnet under antagelse af, at celledyrkningen var 100 % sensitiv og specifik. Den relevante sensitivitet, specificitet og korrelation af testene er vist nedenfor.

Tabel 14.2.1A. Sammenligning af det omformulerede IMAGEN Chlamydia-reagens og celledyrkning.

		Mandlige patienter		Kvindelige patienter		Kombinerede data	
		Celledyrkning		Celledyrkning		Celledyrkning	
		+	-	+	-	+	-
Omformuleret reagens – Center 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Omformuleret reagens – Center 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ Positive
- Negative

Tabel 14.2.11B. Ydeevne af det omformulerede IMAGEN Chlamydia-reagens i forhold til den tidligere (gamle) formulering.

		Omformuleret		Gammel formulering	
		Råværdi	%	Råværdi	%
Center 1	Sensitivitet	15/16	93,8 %	15/16	93,8 %
	Specificitet	101/101	100 %	101/101	100 %
	Korrelation med dyrkning	116/117	99,1 %	116/117	99,1 %
	Positiv prædiktiv værdi	15/15	100 %	15/15	100 %
	Negativ prædiktiv værdi	101/102	99,0 %	101/102	99,0 %
Center 2	Sensitivitet	16/19	84 %	17/19	89 %
	Specificitet	80/81	99 %	76/81	94 %
	Korrelation med dyrkning	96/100	96 %	93/100	93 %
	Positiv prædiktiv værdi	16/17	94 %	17/22	77 %
	Negativ prædiktiv værdi	80/83	96 %	76/78	97 %

14.2.2 Oftalmiske prøver

IMAGEN Chlamydia-testen blev evalueret i et diagnostisk laboratorium og sammenlignet med et velprøvet celledyrkningssystem (Giemsa-farvning af forbehandlede McCoy-cellemonolag efter primær dyrkning med prøver).

Der blev indsamlet konjunktivale podninger fra 178 patienter med akut follikulær konjunktivitis på et øjenhospital; 163 var i alderen 13-55 år, 3 var babyer (10 uger-12 måneder) og 12 var nyfødte (12 dage-4 uger). Forekomsten af Chlamydia-infektion i populationsgruppen var 8 %. Der blev lavet udstrygninger fra prøvepodninger på klinikken, og podningerne blev derefter anbragt i transportmedium med henblik på celledyrkningsevaluering.

En prøve blev scoret positiv i IMAGEN Chlamydia-testen, når der blev observeret 10 eller flere fluorescerende legemer (se afsnit 11.2.2). En prøve blev scoret positiv i celledyrkningstest, når mindst én farvet intracytoplasmatisk inklusion blev observeret.

Resultaterne fra dette forsøg er vist i tabel 14.2. Af 178 testede prøver blev det samme resultat opnået ved begge metoder i 174 tilfælde, hvilket giver en korrelation på 98 %. Sensitiviteten og specificiteten af IMAGEN Chlamydia-testen var henholdsvis 100 % og 97,5 %, forudsat at celledyrkningsmetoden var 100 % sensitiv og specifik. De prædiktive værdier for positive og negative tests var henholdsvis 79 % og 100 %.

Tabel 14.2 Sammenligning af testresultater ved celledyrkning og IMAGEN Chlamydia-test på oftalmiske prøver

TEST	RESULTAT			
	Negativ	Positiv	Positiv	Negativ
Celledyrkning				
IMAGEN Chlamydia	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv
Antal prøver	159	15	0	4*

* Disse prøver blev taget fra patienter i antibiotikabehandling. Dette kan have kompromitteret celledyrkningsresultatet⁹.

14.2.3 Bekræftelse af celledyrkning

IMAGEN Chlamydia-testen blev evalueret som en dyrkningsbekræftelsestest mod 2 rutinemæssigt anvendte dyrkningsbekræftelsesfarvningsprocedurer (Giemsa og jod). 132 uro-genitale prøver blev hver podet på 3 ioddeoxyuridinbehandlede McCoy-celledækglas (skalhætteglas) i monolag. Podede monolag blev inkuberet ved 37 °C i 48 til 72 timer og derefter fikseret i methanol i 10 minutter.

Fikserede monolag blev farvet med enten Giemsa, jod eller IMAGEN Chlamydia-testreagenset. En prøve blev scoret positiv, når mindst én farvet intracytoplasmatisk inklusion blev observeret med mikroskop.

Resultaterne fra dette forsøg er vist i tabel 14.3. Ud af 132 testede prøver udviklede 56 (42 %) inklusionslegemer. Jodfarvning påviste Chlamydia i 46 af disse prøver, Giemsa-farvning i 49 prøver og IMAGEN Chlamydia i 56 prøver.

Tabel 14.3 Sammenligning af farvningsmetoder til påvisning af Chlamydia-inklusioner i skal-hætteglaskultur

TEST	RESULTAT				
IMAGEN Chlamydia	Positiv	Negativ	Positiv	Positiv	Positiv
Giemsa-farvning	Positiv	Negativ	Negativ	Positiv	Negativ
Jodfarvning	Positiv	Negativ	Negativ	Negativ	Positiv
Antal prøver	42	76	3	7	4

14.3. KRYDSREAKTIVITET

Det monoklonale antistof, der anvendes i IMAGEN Chlamydia, har vist sig at være ikke-reaktivt over for følgende mikroorganismer.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> (0124 anvendt)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. Equisimilis</i>

Herpes simplex virus

Klebsiella aerogenes

Derudover forventes ingen krydsreaktivitet med mycoplasma- og ureaplasma-arter.

15. OVERSIGT OVER EFFEKTIVITET OG YDEEVNE

Resuméet af sikkerhed og ydeevne (SSP) for denne enhed er/vil være tilgængelig i den europæiske database over medicinsk udstyr (Eudamed, <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>), hvor den er knyttet til enhedens Basic UDI-DI (5032384ImagenChlamydiaW7).

16. REFERENCER

- Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
- Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J.
5th edition. American Public Health Association.
1021-1059.
- Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
- Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
- Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
- Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
- Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gately, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
- Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
- Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681
- Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.
- CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39**: 932-935.
- Chlamydial Infections (1986)**
Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.
From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.

- Galen, R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
- Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92-5
- Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.
Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, no. 3, 977-986



 Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Storbritannien

Kontakt din lokale forhandler i tilfælde af spørgsmål.

www.thermofisher.com

Version	Dato for indførte ændringer
X7847C	Juni 2023
Opdateret for at opfylde IVDR-kravene	

Trykt i Storbritannien

DE



Key Code TSMX7847C

www.oxid.com/ifu

Europa +800 135 79 135

USA +1 855 2360 190

Kanada +1 855 805 8539

Rest der Welt +31 20 794 7071

IMAGEN™ Chlamydia

REF	K610111-2		50
------------	-----------------	---	----

1. BESTIMMUNGSGEMÄSSE VERWENDUNG

Der IMAGEN™ Chlamydia-Test ist ein qualitativer, direkter Immunfluoreszenztest zum Nachweis von Chlamydien in humanen urogenitalen und ophthalmischen Proben oder als Bestätigung des Vorliegens von Chlamydien in Zellkulturen. Der Test unterstützt Kliniker im diagnostischen Arbeitsablauf bei der Auswahl von Behandlungsoptionen für Patienten mit Verdacht auf Chlamydieninfektion. Das Gerät ist nicht automatisiert, darf nur durch Fachpersonal verwendet werden und ist kein Begleitdiagnostikum.

IVD - *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.

2. ÜBERSICHT

Chlamydien sind obligate intrazelluläre Parasiten, die mit gramnegativen Bakterien eng verwandt sind¹. Drei Spezies der Gattung Chlamydia sind bekannt: *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) und *Chlamydia pneumoniae* (*TWAR*).

Der Lebenszyklus der Chlamydien verläuft komplex, doch zwei Hauptstrukturen sind bekannt: das infektiöse Elementarkörperchen und das Retikulärkörperchen. Die Infektion einer Zelle wird durch Adhäsion des Elementarkörperchens an die Oberfläche der Wirtszelle eingeleitet und anschließend erfolgt das Eindringen in die Zelle durch Endozytose. Das Elementarkörperchen vergrößert sich in der von der Membran der Wirtszelle gebildeten Vakuole und differenziert sich zum Retikulärkörperchen. Das Retikulärkörperchen dient ausschließlich der Vermehrung der Chlamydien, und die Teilung erfolgt durch binäre Spaltung, für welche der Energievorrat der Wirtszelle genutzt wird. Ungefähr 24 Stunden nach erfolgter Infektion differenzieren sich die Retikulärkörperchen in dem sich ausdehnenden Einschluss und bilden Elementarkörperchen. Der Replikationszyklus dauert 48 bis 72 Stunden und endet mit der Ruptur des Einschlusses und der Freisetzung der Elementarkörperchen. Ein reifer Einschluss kann etwa 10⁴ Chlamydien-Elementarkörperchen enthalten und 75 % des Wirtszellenvolumens einnehmen.

C. trachomatis wurde als häufige Ursache sexuell übertragener Krankheiten^{1,2} sowie als Ursache einer Vielzahl von Infektionskrankheiten beim Menschen, von denen einige asymptomatisch verlaufen können, nachgewiesen.

Bei Erwachsenen kann *C. trachomatis* akute oder subakute Conjunctivitis follicularis verursachen, die zu einer Keratitis punctata voranschreiten kann. Gelegentlich kann es zu Narbenbildung und endemischem Trachom kommen. Die meisten dieser Symptome entwickeln sich bei Patienten, die an unerkannten Genitalinfektionen leiden^{1,3}. Eine andere Komplikation, Ophthalmia neonatorum, wurde bei von infizierten Müttern geborenen Kindern festgestellt.

Zu den Lokationen, von denen gewöhnlich die Proben zur Erstellung einer Chlamydia-Diagnose entnommen werden, gehören die Konjunktiva, die Endozervix und die Urethra. Bei Männern, insbesondere Jugendlichen und Männern ohne Symptome, bei denen eine Untersuchung nach Aufsuchen ärztlicher Behandlung durch die Partnerin durchgeführt wird, ist potentiell die invasive Gewinnung urethraler Abstriche nicht möglich. Für diese Fälle wurde die Gewinnung von Morgenurinproben und die Untersuchung des zentrifugierten Sediments angeregt⁴. Zur Untersuchung von Infektionen der Atemwege wurden auch Proben des Respirationstrakts (z. B. Sputum) zum direkten Nachweis von *C. psittaci* und *C. pneumoniae* herangezogen^{5,6}.

Derzeit existieren drei Hauptdiagnoseverfahren für den Nachweis von Chlamydien in klinischen Proben. Die erste besteht in der Isolierung der Organismen und deren Sichtbarmachung, wobei lebensfähige Elementarkörperchen, die in klinischen Proben vorhanden sind, Zellen von Gewebekulturen infizieren und die sich dabei ergebenden Einschlüsse durch Färbetechniken, wie z. B. Iod- oder Immunfluoreszenzmethoden, nachgewiesen werden. Die zweite Methode beruht auf dem direkten Nachweis von Chlamydien in klinischen Proben unter Anwendung eines Fluorescein-markierten monoklonalen Antikörpers. Die dritte Methode ist ein Enzymimmunoassay, der zum Nachweis von Chlamydia-Antigenen in klinischen Proben dient⁷.

Direkte Immunfluoreszenztests unter Verwendung Fluorescein-markierter monoklonaler Antikörper^{8,9,10} weisen bei der Bestimmung von *C. trachomatis* im Vergleich zu Zellkulturverfahren erwiesenermaßen eine gute Korrelation auf.

DerIMAGENChlamydia-TestisteindirekterImmunfluoreszenztest zum Nachweis und zur Identifizierung von Chlamydien in klinischen Proben oder Zellkulturen. Bei diesem Test gelangt ein gattungsspezifischer monoklonaler Antikörper zur Anwendung, der gegen Chlamydia-Lipopolysaccharid-Antigen, das in allen bekannten Chlamydien-Stämmen vorliegt, gerichtet ist.

3. TESTPRINZIP

Das IMAGEN Chlamydia-Testreagenz enthält Fluoresceinisothiocyanat-(FITC-)konjugierte monoklonale Antikörper Der gattungsspezifische monoklonale Antikörper weist Elementarkörperchen aller bekannten humanen Serovare von *C. trachomatis* sowie Stämme von *C. psittaci* und *C. pneumoniae* nach.

Der konjugierte Antikörper wird in einem einstufigen direkten Immunofluoreszenzverfahren verwendet. Die Proben werden 15 Minuten lang mit dem FITC-konjugierten Reagenz inkubiert. Anschließend wird überflüssiges Reagenz mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) abgewaschen, die gefärbten Flächen werden eingedeckt und mikroskopisch mit einem Epifluoreszenz-Mikroskop ausgewertet. Falls in der klinischen Probe Chlamydien vorliegen, sind sie als helle, apfelgrüne fluoreszierende Elementarkörperchen

zu beobachten, die im Kontrast zum Hintergrund des gegengefärbten Materials stehen. Infizierte einschichtige Zellkulturen, die mit dem FITC-konjugierten monoklonalen Antikörper gefärbt wurden, enthalten helle, apfelgrüne intrazytoplastmatische Chlamydia-Einschlüsse, die im Kontrast zum Hintergrund des gegengefärbten Zellmaterials stehen.

Anerkennung

Der monoklonale Antikörper stammt aus dem Department of Pathology, University of Cambridge, Cambridge, Großbritannien sowie der Division of Communicable Diseases, Clinical Research Centre, Harrow, Middlesex, Großbritannien.

4. DEFINITIONEN

Die nachfolgenden Symbole wurden überall in der Produktbeschreibung angewandt:

	Bestellnummer
	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung (IFU) beachten
	Temperatureinschränkung (Lagertemp.)
	Inhalt ausreichend für <N> Tests
	Nicht für patientennahe Tests
	Nicht zur Wiederverwendung
	Chargenbezeichnung (Chargennummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Importeur
	Einmalige Produktkennung
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Europäische Konformitätsbewertung
	Hersteller

5. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Jedes Kit enthält ausreichend Material für die Durchführung des Tests an 50 Zellkulturpräparaten. Die Haltbarkeit des Testkits ist auf dem äußeren Verpackungsetikett vermerkt.

Im Falle einer Störung darf das Testkit nicht verwendet werden.

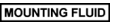
Schwerwiegende Vorkommnisse

Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, die ihm Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller sowie der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder Patient ansässig ist, gemeldet werden.

5.1. IMAGEN Chlamydia-REAGENZIEN

	Gebrauchsanweisung
	2 x 1 als Positivkontrolle vorgesehene Objektträger mit Azeton-fixierten murinen Bindegewebszellen (L929), infiziert mit dem L ₁ -Stamm von <i>C. trachomatis</i> .

Jeweils ein Fläschchen der folgenden Reagenzien:

	3 ml Eindeckmedium. Das Eindeckmedium enthält eine Hemmsubstanz gegen lichtbedingtes Ausbleichen in einer Glycerinlösung (pH 10,0).
---	---

	1,4 ml IMAGEN Chlamydia-Testreagenz. Das Reagenz enthält gereinigte, murine monoklonale Antikörper, die spezifisch gegen den an FITC konjugierten Genus Chlamydiae konjugiert sind.
---	---

5.2. ANSETZEN, LAGERUNG UND ERNEUTE VERWENDUNG DER KIT-KOMPONENTEN

Um eine optimale Leistung des Kits zu gewährleisten, müssen alle nicht genutzten Komponenten in Übereinstimmung mit den folgenden Anleitungen gelagert werden:

5.3. OBJEKTTRÄGER MIT POSITIVKONTROLLE -

Als Positivkontrolle dienende Objektträger werden einzeln in versiegelten und mit Stickstoff gefüllten Kunststoffbeuteln geliefert. Nichtverwendete Objektträger bei 2–8 °C lagern. Vor dem Öffnen den Objektträger 5 Minuten auf Raumtemperatur (15 – 30 °C) bringen.

Die Objektträger müssen unmittelbar nach dem Öffnen angefärbt werden.

5.4. EINDECKMEDIUM -

Gebrauchsfertig. Nicht verwendetes Eindeckmedium bei 2 – 8 °C lagern. Das Eindeckmedium vor Gebrauch 5 Minuten auf Raumtemperatur (15 – 30 °C) bringen.

5.5. REAGENZ -

Gebrauchsfertig. Das Reagenz bei 2 – 8 °C im Dunkeln aufbewahren und vor Gebrauch 5 Minuten lang auf Raumtemperatur (15 – 30 °C) bringen.

6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN

6.1. REAGENZIEN

Frisches Aceton (zur Fixierung)

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS), pH 7,5, zum Waschen der gefärbten Proben und einschichtigen Zellkulturen.

6.2. ZUBEHÖR

Die folgenden Produkte sind für die Verwendung in Verbindung mit IMAGEN Chlamydia vorgesehen. Kontaktieren Sie Ihren lokalen Händler für weitere Informationen.

Teflonbeschichtete Mikroskop-Objektträger aus Glas mit 6 mm-Well (100 Objektträger pro Box) erhalten Sie bei Ihrem örtlichen Händler (Code-Nr. S611430-6).

IMAGEN Chlamydia Positive Control Slides (Code-Nr. S610930-2).

7. AUSSTATTUNG

Es wird folgende Ausstattung benötigt:

Präzisionspipette und Einmal-Pipettenspitzen zur Abgabe von 25 µl

Waschtrog

Deckgläser zum Eindecken einer Vertiefung mit 6 mm Durchmesser

Nicht-fluoreszierendes Immersionsöl

Epifluoreszenz-Mikroskop mit Filtersystem für FITC (maximale Anregungswellenlänge 490 nm, mittlere Emissionswellenlänge 520 nm) und Objektive für 200 – 400-facher und 600 – 1.000-fache Vergrößerung

Inkubator für 37 °C mit Feuchtkammer

Niederturige Zentrifuge

Zellkultur

Sterile Tupfer und Transportmedium, geeignet für Gewinnung, Transport und Kultur von Chlamydien

Zur Isolierung von Chlamydien geeignete Zellkulturlinien

8. VORSICHTSMASSNAHMEN

8.1. SICHERHEITSMASSNAHMEN

8.1.1 Das IMAGEN Chlamydia-Testreagenz enthält < 0,1 % Natriumazid, das giftig ist. Natriumazid kann mit Rohrleitungen aus Blei und Kupfer reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen der azidhaltigen Materialien immer mit viel Wasser spülen.

8.1.2 Chlamydien auf den Objektträgern mit Positivkontrolle haben sich in Zellkulturen nachweislich als nicht infektiös erwiesen; trotzdem sind sie als potentiell infektiös zu handhaben und zu entsorgen.

8.1.3 Das Reagenz enthält Evans-Blau. Obwohl die in dem Produkt vorhandene Konzentration zu gering ist, um als karzinogen klassifiziert zu werden, sollte Hautkontakt vermieden werden.

8.1.4 Bei Verwendung des Eindeckmediums muss vorsichtig vorgegangen werden, da es ein bekanntes Hautreizmittel enthält. Obwohl es momentan unter der Konzentration liegt, laut der das Produkt als Hautreizmittel eingestuft wird, sollte die Haut doch mit Wasser abgespült werden, falls es zu Kontakt kommt.

8.1.5 Das IMAGEN Chlamydia-Testreagenz enthält humanes Immunglobulin. Dieses Material wurde negativ auf die Anwesenheit von Antikörpern gegen HIV, Hepatitis C- und Hepatitis B-Oberflächenantigene getestet. Dennoch sollte es mit Vorsicht behandelt und als potenziell infektiös behandelt werden.

8.1.6 Essen, Trinken, Rauchen, Aufbewahren und Zubereiten von Speisen sowie Schminken sind im Arbeitsbereich verboten.

8.1.7 Pipettieren Sie keine Materialien mit dem Mund.

8.1.8 Beim Handhaben von klinischen Proben und infizierten Zellen sind immer Einweghandschuhe zu tragen und nach dem Umgang mit infektiösen Stoffen sind immer die Hände zu waschen.

8.1.9 Alle klinischen Proben entsprechend den geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

8.1.10 Entsprechende Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich.

8.2. TECHNISCHE VORSICHTSMASSNAHMEN

8.2.1 Die Bestandteile dürfen nach Ablauf des auf den Etiketten vermerkten Verfalldatums nicht mehr verwendet werden. Reagenzien aus verschiedenen Chargen dürfen nicht vermischt oder gegeneinander ausgetauscht werden.

8.2.2 Die Reagenzien werden in festgelegten Arbeitskonzentrationen geliefert. Die Testleistung wird beeinträchtigt, wenn die Reagenzien unter anderen als den in Abschnitt 5 beschriebenen Bedingungen gelagert werden.

8.2.3 Die erforderliche Menge phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) ist am Tag der Anwendung frisch anzusetzen.

8.2.4 Waschschritte müssen mit PBS durchgeführt werden. Die Verwendung anderer Waschlösungen, wie z. B. Leitungswasser oder destilliertes Wasser, beeinträchtigt die Testergebnisse.

8.2.5 Mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden.

8.2.6 Die Reagenzien dürfen nicht tiefgekühlt werden.

9. GEWINNUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN^{*,8}

Die von der männlichen Harnröhre, der Zervix und der Conjunctiva gewonnenen Proben müssen so viele Epithelzellen wie möglich enthalten, da Chlamydien intrazelluläre Organismen sind, die die Epitheloberflächen infizieren¹.

9.1. KLINISCHE PROBEN

9.1.1 Urethralproben (männlich)

Tupfen Sie die Harnröhre ab, indem Sie einen dünnen Tupfer aus Alginat oder Watte 2 – 4 cm tief in die Harnröhre einführen. Drehen Sie den Tupfer mehrmals und ziehen Sie ihn aus der Harnröhre heraus.

9.1.2 Zervikalabstriche (weiblich)

Vor der Probengewinnung wird die Öffnung des Zervikalkanals mit einem sterilen Gazetupfer von überschüssigem Mukus/ Blut/Eiter usw. gereinigt. Einen Endozervikalabstrich gewinnen, indem ein Alginat- oder Wattetupfer oder eine zytologische Spezialbürste circa 1 cm tief in den Zervixkanal eingeführt und mehrere Male gedreht wird. Tupfer mehrmals an der Grenzfläche zwischen Platten- und Zylinderepithel drehen und herausziehen, ohne hierbei die vaginalen Oberflächen zu berühren.

9.1.3 Ophthalmische Proben

Lokalanästhetikum auf das Auge auftragen, dann obere und untere Konjunktiva freilegen. Ein Stäbchen mit einer Watte- oder Dacron™-Spitze kräftig über die Flächen der oberen und unteren Konjunktiva streichen und das Stäbchen während dieses Prozesses rotieren, um sicherzustellen, dass die Probe von der gesamten Fläche der Konjunktiva gewonnen wird.

9.1.4 Vorbereitung der Objektträger

Das zur Probengewinnung genutzte Wattestäbchen mit leichtem Druck innerhalb der 6 mm-Vertiefung auf dem Objektträger hin und her rollen. Sicherstellen, dass zum Vorbereiten des Objektträgers die gesamte Stäbchenspitze verwendet wird. Probe bei Raumtemperatur (15 – 30 °C) an der Luft trocknen lassen und daraufhin 10 Minuten lang mit frischem Azeton fixieren. Objektträger an der Luft trocknen lassen. Wenn die Probe nicht sofort angefärbt wird, kann sie über Nacht bei 2 – 8 °C aufbewahrt oder bei -20 °C bis zu 2 Monate lang gelagert werden.

9.2. EINSCHICHTIGE ZELLKULTUREN

Für das Wachstum in Zellkulturen sind bewährte Labormethoden für die Inokulation und das Wachstum in McCoy-Zellen anzuwenden^{9,14,15}.

Das Medium von der Oberfläche der einschichtigen Zellkultur entfernen. Die Zellen nicht trocknen lassen, weil es sonst zu einer Ruptur der Einschlüsse kommen könnte. Die einschichtige Zellkultur sofort 10 Minuten in frischem Methanol fixieren und anschließend mit geeignetem Fließpapier trockentupfen.

Um optimale Ergebnisse zu erzielen, sollten fixierte einschichtige Zellkultur sofort angefärbt und untersucht werden.

10. TESTVERFAHREN

VOR DURCHFÜHRUNG DES TESTVERFAHRENS SIND DIE IN ABSCHNITT 8.2 AUFGEFÜHRTEN TECHNISCHEN VORSICHTSMASSNAHMEN ZU BEACHTEN.

10.1. ZUSETZEN VON REAGENZ

Dem fixierten Probenabstrich (siehe Abschnitt 9.1), fixierten Zellkultur-Monolayer (siehe Abschnitt 9.2) oder dem als Positivkontrolle dienenden Objektträger 25 µL Reagenz zusetzen. Sicherstellen, dass das Reagenz die gesamte Fläche der Vertiefung bedeckt.

10.2. ERSTE INKUBATION

Objektträger mit Reagenz **15 Minuten** lang bei **37 °C** in einer **feuchten Kammer** inkubieren. Das Reagenz **darf nicht** auf der Probe eintrocknen, da dies zu unspezifischer Anfärbung führt.

10.3. WASCHEN DES OBJEKTTRÄGERS

Überschüssiges Reagenz mit Phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) abwaschen, dann den Objektträger in einem PBS enthaltenden Schüttelbad 5 Minuten vorsichtig waschen. PBS abtropfen lassen und den Objektträger bei Raumtemperatur (15 – 30 °C) an der Luft trocknen lassen.

10.4. ZUSETZEN VON EINDECKMEDIUM

Der Mitte jeder Vertiefung einen Tropfen Eindeckmedium zusetzen und Eindeckmedium wie auch Probe mit einem Deckglas eindecken. Hierbei sicherstellen, dass keine Luftblasen mit eingeschlossen werden.

10.5. ABLESEN DES OBJEKTTRÄGERS

Mit einem Epifluoreszenz-Mikroskop den gesamten Bereich der Vertiefung mit der angefärbten Probe untersuchen. Die in Abschnitt 11 beschriebene Fluoreszenz sollte bei 600 – 1.000-facher Vergrößerung sichtbar sein. (Für optimale Ergebnisse sollten Objektträger sofort angefärbt und abgelesen werden.)

11. INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

11.1. KONTROLLEN

11.1.1 Objektträger mit Positivkontrolle

Werden Objektträger mit Positivkontrolle gemäß Abschnitt 10 abgelesen, sollten extrazelluläre Elementarkörperchen (EKs) zu erkennen sein, die sich als sehr kleine Scheiben von ca. 300 nm Durchmesser mit glatten Rändern darstellen und eine helle apfelgrüne Fluoreszenz aufweisen. Die EKs heben sich von einem Hintergrund rot gegengefärbter Zellen und Zelltrümmer ab. Darüber hinaus können andere Chlamydia-Erscheinungsformen sichtbar sein, die 2 bis 3 mal größer als EKs sind und von denen einige gleichmäßig fluoreszieren oder über dunkle, von einem apfelgrün fluoreszierenden Hof umgebene Zentren verfügen. Bei ihnen kann es sich um Intermediärformen von Chlamydien oder Retikulärkörperchen handeln. In Einzelfällen werden große, hell fluoreszierende, intakte, intrazytoplastmatische Chlamydia-Einschlüsse sichtbar.

11.1.2 Negativkontrolle

Falls eine negative Kontrolle erforderlich ist, wird die Verwendung von nicht infizierten, intakten oder rupturierten Zellen des Typs empfohlen, der zur Kultur und Isolierung von Chlamydien verwendet wird. Die Zellen sind wie in Abschnitt 9.2 beschrieben zu präparieren und zu fixieren und anschließend gemäß Abschnitt 10 anzufärben.

11.2. KLINISCHE PROBEN

11.2.1 Erscheinungsbild von Chlamydia-Elementarkörperchen

Extrazelluläre Elementarkörperchen sind die häufigste Form von Chlamydien in klinischen Proben und stellen sich als leuchtende, glattkantige Körper mit einem Durchmesser von etwa 300 nm dar, wie in Abschnitt 11.1.1 beschrieben.

11.2.2 Interpretation der Ergebnisse

Eine positive Diagnose wird gestellt, wenn in den fixierten und gefärbten Proben mindestens 10 Chlamydia-Elementarkörperchen nachgewiesen werden. Dieses Minimum empfiehlt sich, um die Gefahr falsch positiver Ergebnisse aufgrund einer Fehlinterpretation unspezifischer Fluoreszenz möglichst gering zu halten. Um ein negatives Ergebnis mitteilen zu können, müssen in einer Vertiefung gegengefärbte Zellen zu sehen sein. Bei diesen Zellen kann es sich um unbeschädigte oder rupturierte Zylinder- und Plattenepithelzellen sowie in Einzelfällen um polymorphkernige Leukozyten handeln. Das Fehlen von Zellmaterial kann auf mangelhafte Probengewinnung zurückzuführen sein; in einem solchen Fall empfiehlt es sich, eine weitere Probe anzufordern.

11.2.3 Unspezifische Fluoreszenz

Unregelmäßig geformtes Material, dessen Morphologie von den in Abschnitt 11.1.1 beschriebenen Elementarkörperchen abweicht und das nicht apfelgrün, sondern weiß, rot oder gelb fluoresziert, ist als unspezifische Färbung einzustufen.

11.3. NACHWEIS IN ZELLKULTUREN

11.3.1 Erscheinungsbild von Chlamydia-Einschlüssen

Intrazelluläre Chlamydia-Einschlüsse werden als helle apfelgrüne Säckchen innerhalb des Zytoplasmas infizierter Zellen sichtbar. Ein Einschluss kann bis zu 75 % des Zytoplasmas der Wirtszelle einnehmen.

11.3.2 Interpretation

Eine positive Diagnose wird gestellt, wenn ein oder mehrere gefärbte intrazelluläre chlamydiale Einschlüsse in der einschichtigen Zellkultur zu sehen sind.

12. LEISTUNGSEINSCHRÄNKUNGEN

- 12.1. Das visuelle Erscheinungsbild der Fluoreszenz kann je nach Art des verwendeten Mikroskops und der Lichtquelle variieren.
- 12.2. Es darf nur das im Kit mitgelieferte Eindeckmedium verwendet werden.
- 12.3. Es wird empfohlen, 25 µl Reagenz zu verwenden, um eine 6 mm große Vertiefung abzudecken. Eine Reduzierung dieses Volumens kann zu Schwierigkeiten beim Abdecken der von der Probe eingenommenen Fläche führen und die Testempfindlichkeit herabsetzen.
- 12.4. Alle Reagenzien werden in festgelegten Arbeitskonzentrationen geliefert. Die Testempfindlichkeit kann beeinträchtigt werden, wenn Reagenzien modifiziert oder nicht entsprechend den in Abschnitt 5 empfohlenen Bedingungen aufbewahrt werden.
- 12.5. Falls in der Zellkultur keine Chlamydien nachgewiesen werden, kann das die Folge verschiedener Faktoren sein, wie z. B. unsachgemäße Probengewinnung, Handhabung und Aufbewahrung der Proben sowie Versagen der verwendeten Zelllinie sein. Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Chlamydia-Infektion nicht aus.
- 12.6. Systeme zum Nachweis von Antigenen wie der IMAGEN Chlamydia dürfen zur Informationsbeschaffung in gerichtsmedizinischen Fällen nicht eingesetzt werden. Bei Untersuchungen aufgrund eines Verdachts auf Missbrauch oder in weiteren Situationen, in denen die Möglichkeit eines falsch-positiven Results nicht akzeptiert werden kann, sind ausschließlich standardmäßige Chlamydien-Kulturen anzulegen¹¹.
- 12.7. Das Vorliegen von Chlamydien in klinischen Proben schließt die Möglichkeit einer begleitenden Infektion mit anderen pathogenen Mikroorganismen nicht aus. Die Testergebnisse müssen in Verbindung mit epidemiologischen, klinischen und anderen diagnostischen Daten für den Patienten ausgewertet werden.

13. ERWARTETE WERTE

Die Prävalenz von Chlamydia-Infektionen in einer Studienpopulation variiert mit der untersuchten Population.^{1,2} Die Verbreitung urogenitaler Chlamydia-Infektionen bei unselektierten Patienten, die zur Behandlung urogenitaler Erkrankungen eine Klinik aufsuchten, schwankt zwischen 10 und 25 %. Bei Patienten, die wegen einer unspezifischer Urethritis und post-gonorrhöischer Urethritis eine Behandlung aufsuchen, kann die Prävalenz 30 bis 60 % betragen.

Eine niedrigere Prävalenz urogenitaler Chlamydia-Infektionen (unter 10 %) kann bei Populationen von Patientinnen angetroffen werden, die in Kliniken für Geburtshilfe und Gynäkologie behandelt werden^{1,2}.

Die Prävalenz ophthalmischer Chlamydia-Infektionen kann in Studien an Paratrachom-Patienten (Schwimmbadkonjunktivitis) zwischen 5 % und 20 % liegen^{1,9}.

14. LEISTUNGSMERKMALE – REAKTIVITÄT

14.1. SPEZIFITÄT DES MONOKLONALEN ANTIKÖRPERS

Der monoklonale Antikörper, der beim IMAGEN Chlamydia-Reagenz zur Anwendung gelangt, reagiert nachweislich mit dem Epitop eines chlamydialen Lipopolysaccharid-Antigens, das allen Chlamydia-Stämmen gemein ist.

Bei immunochemischem Anfärben wird manchmal eine unspezifische Färbung beobachtet, wenn es zur Bindung zwischen den Fc-Regionen des Antikörpers und Protein A kommt, das von einigen *Staphylococcus aureus*-Stämmen gebildet wird. Das IMAGEN Chlamydia Reagenz wurde entwickelt, um solche Bindungen zu reduzieren.

14.2. KLINISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT¹³

14.2.1 Urogenitale Proben

An zwei externen Standorten wurden klinische Studien durchgeführt, um die Leistung des neu formulierten IMAGEN Chlamydia-Reagenzes (enthält 1 mg/ml humanes IgG) zum Nachweis von *C. trachomatis* aus urogenitalen Proben zu bewerten. Die Leistung wurde sowohl mit dem damals auf dem Markt erhältlichen IMAGEN Chlamydia-Reagenz (kein humanes IgG) als auch mit herkömmlichen Zellkultursystemen für *C. trachomatis* verglichen.

117 Patientenproben (77 Männer und 40 Frauen) wurden in Prüfzentrum 1 bzw. 100 Patientenproben (39 Männer und 61 Frauen) in Prüfzentrum 2 getestet. Bei allen Proben wurde nur ein Abstrich entnommen. Die Hälfte des Abstrichs wurde auf einen 8-mm-Objektträger mit einer Einfach-Vertiefung gerollt. Der Abstrich wurde dann in ein Chlamydien-Nährmedium gegeben. Die Objektträger wurden wie in der Packungsbeilage beschrieben fixiert und die Vertiefung dann mit einem dünnen Strich aus farblosem Nagellack in zwei Teile geteilt. Ein Volumen von 10 µl des entsprechenden IMAGEN-Reagenzes (neuformulierte oder alte Formulierung) wurde in die entsprechende Hälfte der Vertiefung gegeben. Alle anderen Schritte wurden gemäß der Packungsbeilage durchgeführt. Eine Probe wurde als positiv bewertet, wenn zehn oder mehr Elementarkörper gefunden wurden. Für die Zellkultur wurden mit Cytochalasin B vorbehandelte, einschichtige McCoy-Zellen mit Giemsa angefärbt und mit einem Dunkelfeldmikroskop untersucht.

Empfindlichkeit, Spezifität und Vorhersagewert wurden unter der Annahme einer 100%igen Spezifität und Empfindlichkeit der Zellkultur berechnet. Die entsprechende Empfindlichkeit, Spezifität und Korrelation der Tests sind nachstehend aufgeführt.

Tabelle 14.2.1A. Vergleich der Testergebnisse zwischen Zellkultur und dem neuformulierten IMAGEN Chlamydia-Reagenz

		Männliche Patienten Zellkultur		Weibliche Patienten Zellkultur		Kombinierte Daten Zellkultur	
		+	-	+	-	+	-
Neuformuliertes Reagenz – Prüfzentrum 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Neuformuliertes Reagenz – Prüfzentrum 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ Positiv

- Negativ

Tabelle 14.2.11B. Leistung des neu formulierten IMAGEN Chlamydia-Reagenzes im Vergleich zur vorherigen (alten) Formulierung.

		Neue Formulierung		Alte Formulierung	
		Rohwert	%	Rohwert	%
Prüfzentrum 1	Empfindlichkeit	15/16	93,8 %	15/16	93,8 %
	Spezifität	101/101	100 %	101/101	100 %
	Korrelation mit der Zellkultur	116/117	99,1 %	116/117	99,1 %
	Positiver Vorhersagewert	15/15	100 %	15/15	100 %
	Negativer Vorhersagewert	101/102	99,0 %	101/102	99,0 %
Prüfzentrum 2	Empfindlichkeit	16/19	84 %	17/19	89 %
	Spezifität	80/81	99 %	76/81	94 %
	Korrelation mit der Zellkultur	96/100	96 %	93/100	93 %
	Positiver Vorhersagewert	16/17	94 %	17/22	77 %
	Negativer Vorhersagewert	80/83	96 %	76/78	97 %

14.2.2 Ophthalmische Proben

Der IMAGEN Chlamydia-Test wurde in einem diagnostischen Routine-Laboratorium gegen ein etabliertes Zellkultursystem (Giemsa-Färbung vorbehandelter, einschichtiger McCoy-Zellen nach Primärkultur mit Proben) ausgewertet.

Die Konjunktivalabstriche wurden von 178 Patienten mit akutem Follikularkatarh gewonnen, die in einer Augenklinik behandelt wurden; 163 waren 13 bis 55 Jahre alt, 3 waren Säuglinge (10 Wochen bis 12 Monate) und 12 waren Neugeborene (12 Tage bis 4 Wochen). Die Inzidenz von Chlamydia-Infektionen betrug in der getesteten Populationsgruppe 8 %. Die Ausstriche wurden mit den im Krankenhaus entnommenen Probenabstrichen hergestellt, die anschließend in ein Transportmedium gegeben wurden, um sie in der Zellkultur auszutesten.

Eine Probe wurde im IMAGEN Chlamydia-Test als positiv bewertet, wenn 10 oder mehr fluoreszierende Elementarkörperchen feststellbar waren (siehe Abschnitt 11.2.2). In der Zellkultur wurde eine Probe als positiv bewertet, wenn mindestens ein gefärbter intrazytoplasmatischer Einschluss erkennbar war.

Die Ergebnisse dieser Studie sind in Tabelle 14.2 dargestellt. Von den 178 getesteten Proben wurde in 174 Fällen mit beiden Methoden ein übereinstimmendes Ergebnis erzielt, was einer Korrelation von 98 % entspricht. Empfindlichkeit und Spezifität des IMAGEN Chlamydia-Tests betrugen 100 % bzw. 97,5 %, wenn von einer 100%igen Spezifität und Empfindlichkeit der Zellkulturmethode ausgegangen wird. Die Vorhersagewerte für positive und negative Tests betrugen 79 % bzw. 100 %.

Tabelle 14.2 Vergleich der Testergebnisse zwischen Zellkultur und dem IMAGEN Chlamydia-Test an ophthalmischen Proben

TEST	ERGEBNIS				
Zellkultur	Negativ	Positiv	Positiv	Negativ	Negativ
IMAGEN Chlamydia	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Positiv
Anzahl der Proben	159	15	0	4*	

- * Diese Proben wurden von Patienten gewonnen, die mit Antibiotika behandelt wurden. Diese Behandlung kann sich auf das Ergebnis der Zellkultur negativ ausgewirkt haben⁹.

14.2.3 Nachweis in Zellkulturen

Der IMAGEN Chlamydia-Test wurde als Zellkultur-Bestätigungstest gegen 2 routinemäßig eingesetzte Färbemethoden des Zellkultur-Bestätigungstests (Giemsa und Iod) ausgewertet. Insgesamt 132 urogenitale Proben wurden jeweils auf 3 mit Iod-Desoxyuridin behandelte, einschichtige McCoy-Zellen (Kurzkultur nach dem „shell vial“-Verfahren) inkuliert. Die beimpten einschichtigen Zellkulturen („Monolayer“) wurden 48 bis 72 Stunden bei 37 °C inkubiert und anschließend 10 Minuten in Methanol fixiert.

Anfärbung der fixierten Monolayer erfolgte mit Giemsa, Iod oder dem IMAGEN Chlamydia-Testreagenz. Eine Probe wurde als positiv bewertet, wenn unter dem Mikroskop mindestens ein gefärbter intrazytoplasmatischer Einschluss zu sehen war.

Die Ergebnisse dieser Studie sind in Tabelle 14.3 dargestellt. Von 132 getesteten Proben wiesen 56 (42 %) Einschlüsse auf. Mit der Iod-Färbung wurden Chlamydien in 46 dieser Proben nachgewiesen; die Giemsa-Färbung ergab Chlamydien in 49 Proben und mit dem IMAGEN Chlamydia waren 56 Proben positiv.

Tabelle 14.3 Vergleich der Färbemethoden zum Nachweis von Chlamydia-Einschlüssen in der Kurzkultur (shell vial-Verfahren)

TEST	ERGEBNIS				
IMAGEN Chlamydia	Positiv	Negativ	Positiv	Positiv	Positiv
Giemsa-Färbung	Positiv	Negativ	Negativ	Positiv	Negativ
Jod-Färbung	Positiv	Negativ	Negativ	Negativ	Positiv
Anzahl der Proben	42	76	3	7	4

14.3. KREUZREAKTIVITÄT

Der im IMAGEN Chlamydia-Testkit genutzte Antikörper reagiert nachweislich nicht mit den unten angeführten Mikroorganismen.

<i>Acinetobacter calcoaceticus var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> (0124 verwendet)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. Equisimilis</i>
<i>Herpes simplex virus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i>	

Außerdem ist keine Kreuzreaktivität mit Mycoplasma- und Ureaplasma-Spezies zu erwarten.

15. KURZBERICHT ÜBER SICHERHEIT UND LEISTUNG

Der Kurzbericht über Sicherheit und Leistung (Summary of Safety and Performance, SSP) für dieses Produkt ist (wird) in der europäischen Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed, <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>) verfügbar (sein), wo er mit der Basis-UDI-DI Produktkennung (5032384ImagenChlamydiaW7) verknüpft ist.

16. LITERATUR

1. **Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
2. **Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J.
5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
3. **Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
4. **Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
5. **Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
6. **Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
7. **Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
8. **Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
9. **Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681
10. **Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.
11. **CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39**: 932-935.
12. **Chlamydial Infections (1986)**
Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.
From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.
13. **Galen, R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
14. **Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92-5
15. **Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.
Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, no. 3, 977-986



CE 2797

 Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Bei allen Anfragen wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Händler.

www.thermofisher.com

Version	Datum eingeführter Änderungen
X7847C	Juni 2023 Aktualisiert zwecks Erfüllung der IVDR-Anforderungen

Gedruckt im Vereinigten Königreich

11.1.2 Αρνητικός μάρτυρας

Εάν απαιτείται αρνητικός μάρτυρας, συνιστάται η χρήση μη μολυσμένων άθικτων κυττάρων ή κυττάρων ενός τύπου που χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια και την απομόνωση των χλαμυδίων και έχουν υποστεί ρήξη. Τα κύτταρα θα πρέπει να παρασκευάζονται και να μονιμοποιούνται όπως περιγράφεται στην ενότητα 9.2 και να χρωματίζονται όπως περιγράφεται στην ενότητα 10.

11.2. ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

11.2.1 Εμφάνιση χλαμυδιακών σωματιδίων

Τα εξωκυττάρια στοιχειώδη σωματία είναι η πλέον συνήθης μορφή χλαμυδίων σε κλινικά δείγματα και εμφανίζονται ως σωματίια με λείες άκρες σε έντονο χρώμα πράσινου μήλου, διαμέτρου 300 nm περίπου, όπως περιγράφεται στην ενότητα 11.1.1.

11.2.2 Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Η διάγνωση είναι θετική όταν στα μονιμοποιημένα, κεχρωσμένα δείγματα παρατηρούνται τουλάχιστον 10 χλαμυδιακά σωματίια. Το επίπεδο αυτό συνιστάται προκειμένου να μειωθούν τυχόν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω εσφαλμένης ερμηνείας μη ειδικού φθορισμού. Τα αντίθετα κεχρωσμένα κύτταρα πρέπει να είναι ορατά σε ένα βοθρίο πριν από την αναφορά τυχόν αρνητικών αποτελεσμάτων. Τα κύτταρα αυτά μπορεί να είναι άθικτα ή κύτταρα κυλινδρικού και πλακώδους επιθηλίου που έχουν υποστεί ρήξη ή, περιστασιακά, πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα. Η απουσία κυτταρικού υλικού ενδέχεται να υποδηλώνει κακή ποιότητα συλλογής δείγματος και συνιστάται επαναληπτική δειγματοληψία.

11.2.3 Μη ειδικός φθορισμός

Υλικό ακανόνιστου σχήματος που διαθέρει μορφολογικά από τα χλαμυδιακά σωματίια που περιγράφονται στην ενότητα 11.1.1, το οποίο φθορίζει με λευκό, ερυθρό ή κίτρινο χρώμα αντί για χρώμα πράσινου μήλου πρέπει να θεωρείται ως μη ειδική χρώση.

11.3. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

11.3.1 Εμφάνιση χλαμυδιακών εγκλείστων

Τα ενδοκυττάρια χλαμυδιακά έγκλειστα εμφανίζονται ως ασκοί έντονου χρώματος πράσινου μήλου εντός του κυτταροπλάσματος των μολυσμένων κυττάρων. Ένα έγκλειστο μπορεί να καταλαμβάνει έως και το 75% του κυτταροπλάσματος του κυττάρου-ξενιστή.

11.3.2 Ερμηνεία

Η διάγνωση είναι θετική όταν στη μονοστοιβάδα παρατηρούνται ένα ή περισσότερα κεχρωσμένα ενδοκυττάρια χλαμυδιακά έγκλειστα.

12. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

12.1. Η οπτική εμφάνιση της εικόνας φθορισμού που λαμβάνεται ενδέχεται να ποικίλει λόγω του τύπου μικροσκοπίου και της πηγής φωτός που χρησιμοποιούνται.

12.2. Χρησιμοποιείτε μόνο το υγρό στερέωσης που παρέχεται.

12.3. Συνιστάται η χρήση 25 μL αντιδραστηρίου για την κάλυψη μιας περιοχής βοθρίου διαμέτρου 6 mm. Τυχόν μείωση του όγκου αυτού ενδέχεται να οδηγήσει σε δυσκολίες στην κάλυψη της περιοχής του δείγματος και σε μείωση της ευαισθησίας.

12.4. Όλα τα αντιδραστήρια παρέχονται σε σταθερές συγκεντρώσεις εργασίας. Η απόδοση της εξέτασης ενδέχεται να επηρεαστεί εάν τα αντιδραστήρια τροποποιηθούν με οποιονδήποτε τρόπο ή δεν αποθηκευτούν υπό τις συνιστώμενες συνθήκες, όπως περιγράφεται στην ενότητα 5.

12.5. Τυχόν αποτυχία ανίχνευσης χλαμυδίων σε κυτταροκαλλιέργεια ενδέχεται να είναι αποτέλεσμα παραγόντων, όπως συλλογή του δείγματος σε ακατάλληλο χρονικό σημείο της νόσου, εσφαλμένη δειγματοληψία ή/και χειρισμός του δείγματος, αποτυχία της κυτταροκαλλιέργειας κ.λπ. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει την πιθανότητα χλαμυδιακής λοίμωξης.

12.6. Τα συστήματα ανίχνευσης αντιγόνων, όπως η εξέταση IMAGEN Chlamydia, δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την παροχή πληροφοριών για ιατρικο-νομικές υποθέσεις. Στην αξιολόγηση πιθανολογούμενης κακοποίησης ή άλλων καταστάσεων στις οποίες η πιθανότητα ψευδώς θετικού αποτελέσματος με συστήματα ανίχνευσης αντιγόνου είναι μη αποδεκτή¹, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο πρότυπες καλλιέργειες χλαμυδίων.

12.7. Η παρουσία χλαμυδίων σε κλινικά δείγματα δεν αποκλείει απαραίτητα την πιθανότητα συνυπάρχουσας λοίμωξης από άλλα παθογόνα. Τα αποτελέσματα των εξετάσεων θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τις πληροφορίες που διατίθενται από επιδημιολογικές μελέτες, από την κλινική αξιολόγηση του ασθενούς και από άλλες διαγνωστικές διαδικασίες.

13. ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ο επιπολασμός των χλαμυδιακών λοιμώξεων σε έναν υπό μελέτη πληθυσμό ποικίλει ανάλογα με τον τύπο του πληθυσμού που μελετάται^{1,2}. Ο επιπολασμός της ουρογεννητικής χλαμυδιακής λοίμωξης για μη επιλεγμένους ασθενείς που προσέρχονται σε κλινική ουρογεννητικής ιατρικής ποικίλει μεταξύ 10% και 25%. Για ασθενείς που προσέρχονται με μη ειδική ουρηθρίτιδα και μετα-γονοκοκκική ουρηθρίτιδα, ο επιπολασμός μπορεί να φτάσει έως και το 30% με 60%.

Μικρότερος επιπολασμός ουρογεννητικής χλαμυδιακής λοίμωξης (μικρότερος από 10%) μπορεί να παρατηρηθεί σε πληθυσμούς ασθενών που προσέρχονται σε μαιευτικές και γυναικολογικές κλινικές^{1,12}.

Ο επιπολασμός των οφθαλμικών χλαμυδιακών λοιμώξεων μπορεί να ποικίλει μεταξύ 5% και 20% σε μελέτες παρατραχώματος (επιτεφικίτιδα από έγκλειστα)^{1,9}.

14. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

14.1. ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΟΥ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ

Έχει καταδειχθεί ότι το μονοκλωνικό αντίσωμα που χρησιμοποιείται στο αντιδραστήριο IMAGEN Chlamydia αντιδρά με έναν επίτοπο του αντιγόνου χλαμυδιακού λιποπλυσσακχαρίτη, ο οποίος είναι κοινός σε όλα τα στελέχη των χλαμυδίων.

Ορισμένες φορές παρατηρείται μη ειδική χρώση σε ανοσοχημική χρώση λόγω δέσμευσης μεταξύ των περιοχών Fc του αντισώματος και της πρωτεΐνης Α που παράγεται από μερικά στελέχη του *Staphylococcus aureus*. Το αντιδραστήριο IMAGEN Chlamydia είναι σχεδιασμένο ώστε να μειώνει τέτοιες δεσμεύσεις.

14.2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΠΟΔΟΣΗ¹³

14.2.1 Ουρογεννητικά δείγματα

Πραγματοποιήθηκαν κλινικές δοκιμές σε δύο εξωτερικά κέντρα για την αξιολόγηση της απόδοσης του ανασχηματισμένου αντιδραστηρίου IMAGEN Chlamydia (περιέχει ανθρώπινη IgG στα 1 mg/ml) για την ανίχνευση του *C. trachomatis* από ουρογεννητικά δείγματα. Η απόδοση συγκρίθηκε τόσο με το αντιδραστήριο IMAGEN Chlamydia που κυκλοφορούσε στην αγορά εκείνη τη στιγμή (χωρίς ανθρώπινη IgG), όσο και με συνήθη κυτταροκαλλιέργεια για *C. trachomatis*.

117 δείγματα (77 ανδρών και 40 γυναικών) εξετάστηκαν στο Κέντρο 1 και 100 δείγματα (39 ανδρών και 61 γυναικών) στο Κέντρο 2. Για όλα τα δείγματα λήφθηκε μόνο ένας στειλεός. Πραγματοποιήθηκε κύλιση του μισού στειλεού πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα ενός βοθρίου 8 mm. Στη συνέχεια, ο στειλεός μεταφέρθηκε σε μέσο μεταφοράς καλλιέργειας χλαμυδίων. Οι αντικειμενοφόροι πλάκες μονιμοποιήθηκαν όπως περιγράφεται στο ενημερωτικό φυλλάδιο του προϊόντος και, στη συνέχεια, το βοθρίο χωρίστηκε σε δύο μέρη με τη χρήση λεπτής γραμμής από άχρωμο βερνίκι νυχιών. Προστέθηκε όγκος 10 μl κατάλληλου αντιδραστηρίου IMAGEN (ανασχηματισμένου ή παλαιότερου σκευάσματος) στο κατάλληλο μισό μέρος του βοθρίου. Όλα τα βήματα πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με το ενημερωτικό φυλλάδιο του προϊόντος. Ένα δείγμα βαθμολογείται ως θετικό, εάν παρατηρηθούν δέκα ή περισσότερα στοιχειώδη σωματίια. Για κυτταροκαλλιέργεια, οι μονοστοιβάδες κυττάρων McCoy επεξεργασμένων με κυτταροχλασίνη B χρωματίστηκαν με χρώση Giemsa και παρατηρήθηκαν μέσω μικροσκοπίας σκοτεινού πεδίου.

Η ευαισθησία, η ειδικότητα και οι προγνωστικές τιμές υπολογίστηκαν βάσει της υπόθεσης ότι η κυτταροκαλλιέργεια παρουσιάζει 100% ευαισθησία και ειδικότητα. Η σχετική ευαισθησία, ειδικότητα και συσχέτιση των εξετάσεων φαίνεται παρακάτω.

Πίνακας 14.2.1Α. Σύγκριση ανασχηματισμένου αντιδραστηρίου IMAGEN Chlamydia και κυτταροκαλλιέργειας.

		Άνδρες ασθενείς		Γυναίκες ασθενείς		Συνδυασμένα δεδομένα	
		Κυτταροκαλλιέργεια		Κυτταροκαλλιέργεια		Κυτταροκαλλιέργεια	
		+	-	+	-	+	-
Ανασχηματισμένο αντιδραστήριο – Κέντρο 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Ανασχηματισμένο αντιδραστήριο – Κέντρο 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ *Θετικό*

- *Αρνητικό*

Πίνακας 14.2.1Β. Απόδοση ανασχηματισμένου αντιδραστηρίου IMAGEN Chlamydia έναντι προηγούμενου (παλαιότερου) σκευάσματος.

		Ανασχηματισμένο		Παλαιότερο σκεύασμα	
		Μη επεξεργασμένη τιμή	%	Μη επεξεργασμένη τιμή	%
Κέντρο 1	Ευαισθησία	15/16	93,8%	15/16	93,8%
	Ειδικότητα	101/101	100%	101/101	100%
	Συσχέτιση με καλλιέργεια	116/117	99,1%	116/117	99,1%
	Θετική προγνωστική τιμή	15/15	100%	15/15	100%
	Αρνητική προγνωστική τιμή	101/102	99,0%	101/102	99,0%
Κέντρο 2	Ευαισθησία	16/19	84%	17/19	89%
	Ειδικότητα	80/81	99%	76/81	94%
	Συσχέτιση με καλλιέργεια	96/100	96%	93/100	93%
	Θετική προγνωστική τιμή	16/17	94%	17/22	77%
	Αρνητική προγνωστική τιμή	80/83	96%	76/78	97%

14.2.2 Οφθαλμικά δείγματα

Η εξέταση IMAGEN Chlamydia αξιολογήθηκε σε ένα διαγνωστικό εργαστήριο ρουτίνας έναντι ενός καθιερωμένου συστήματος κυτταροκαλλιέργειας (χρώση Giemsa προεπεξεργασμένων μονοστοιβάδων κυττάρων McCoy μετά από πρωτογενή καλλιέργεια με δείγματα).

Συλλέχθηκαν αποσπογγίσεις επιτεφικίτιδα από 178 ασθενείς με οξεία θυλακιώδη επιτεφικίτιδα που προσήλθαν σε οφθαλμολογικό νοσοκομείο. Οι 163 από τους ασθενείς ήταν ηλικίας 13-55 ετών, οι 3 ήταν βρέφη (10 εβδομάδων έως 12 μηνών) και οι 12 ήταν νεογνά (12 ημερών έως 4 εβδομάδων). Η επίπτωση της λοίμωξης από χλαμύδια στην ομάδα πληθυσμού από τον οποίο λήφθηκαν δείγματα ήταν 8%. Τα επιχρίσματα παρασκευάστηκαν από στειλεούς δειγμάτων στην κλινική και, στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν σε μέσο μεταφοράς για την αξιολόγηση της κυτταροκαλλιέργειας.

Ένα δείγμα βαθμολογήθηκε ως θετικό στην εξέταση IMAGEN Chlamydia όταν παρατηρήθηκαν 10 ή περισσότερα φθορίζοντα σωματίια (βλ. ενότητα 11.2.2). Ένα δείγμα βαθμολογήθηκε ως θετικό στην εξέταση κυτταροκαλλιέργειας όταν παρατηρήθηκε τουλάχιστον ένα κεχρωσμένο ενδοκυτταροπλασματικό έγκλειστο.

Τα αποτελέσματα από αυτήν τη δοκιμή φαίνονται στον Πίνακα 14.2. Από τα 178 δείγματα που εξετάστηκαν, προέκυψε το ίδιο αποτέλεσμα και με τις δύο μεθόδους σε 174 περιπτώσεις, με συσχέτιση 98%. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της εξέτασης IMAGEN Chlamydia ήταν 100% και 97,5% αντίστοιχα, με την παραδοχή ότι η ευαισθησία και η ειδικότατα της μεθόδου κυτταροκαλλιέργειας ήταν 100%. Οι προγνωστικές τιμές για τις θετικές και τις αρνητικές εξετάσεις ήταν 79% και 100% αντίστοιχα.

Πίνακας 14.2 Σύγκριση των αποτελεσμάτων της εξέτασης με κυτταροκαλλιέργεια και εξέταση IMAGEN Chlamydia σε οφθαλμικά δείγματα

ΕΞΕΤΑΣΗ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ			
Κυτταροκαλλιέργεια IMAGEN Chlamydia	Αρνητικό Αρνητικό	Θετικό Θετικό	Θετικό Αρνητικό	Αρνητικό Θετικό
Αριθμός δειγμάτων	159	15	0	4*

* Τα δείγματα αυτά λήφθηκαν από ασθενείς υπό αντιβιοτική θεραπεία. Αυτό μπορεί να έχει διακυβέυσει το αποτέλεσμα της κυτταροκαλλιέργειας⁹.

14.2.3 Επιβεβαίωση κυτταροκαλλιέργειας

Η εξέταση IMAGEN Chlamydia αξιολογήθηκε ως εξέταση επιβεβαίωσης καλλιέργειας έναντι 2 διαδικασιών χρώσης επιβεβαίωσης καλλιέργειας που χρησιμοποιούνται συνήθως (Giemsa και ιωδίου). 132 ουρογεννητικά δείγματα ενοφθαλμίστηκαν το καθένα πάνω σε 3 μονοστοιβάδες κυττάρων McCoy επεξεργασμένων με ιωδοδεοξυουριδίνη με καλυπτρίδα (τεχνική shell vial). Οι ενοφθαλμισμένες μονοστοιβάδες επωάστηκαν στους 37 °C για 48 έως 72 ώρες και, στη συνέχεια, μονιμοποιήθηκαν σε μεθανόλη για 10 λεπτά.

Οι μονιμοποιημένες μονοστοιβάδες υποβλήθηκαν σε χρώση με Giemsa, ιώδιο ή αντιδραστήριο εξέτασης IMAGEN Chlamydia. Ένα δείγμα βαθμολογήθηκε ως θετικό όταν παρατηρήθηκε μικροσκοπικά τουλάχιστον ένα κεχρωσμένο ενδοκυτταροπλασματικό έγκλειστο.

Τα αποτελέσματα από αυτήν τη δοκιμή φαίνονται στον Πίνακα 14.3. Από τα 132 δείγματα που εξετάστηκαν, τα 56 (42%) ανέπτυξαν έγκλειστα σωματίια. Με τη χρώση ιωδίου ανιχνεύθηκαν χλαμύδια σε 46 από τα δείγματα αυτά, με τη χρώση Giemsa σε 49 δείγματα και με την εξέταση IMAGEN Chlamydia σε 56 δείγματα.

Πίνακας 14.3 Σύγκριση των μεθόδων χρώσης για την ανίχνευση χλαμυδιακών εγκλείστων σε καλλιέργεια σε ειδικό φιαλίδιο shell vial

ΕΞΕΤΑΣΗ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ				
IMAGEN Chlamydia	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	Θετικό	Θετικό
Χρώση Giemsa	Θετικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό
Χρώση ιωδίου	Θετικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό
Αριθμός δειγμάτων	42	76	3	7	4

14.3. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Έχει καταδειχθεί ότι το μονοκλωνικό αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε στην εξέταση IMAGEN Chlamydia είναι μη αντιδραστικό για τους παρακάτω μικροοργανισμούς.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>debroμένα</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> (χρησιμοποιήθηκε το 0124)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>subsp. Equisimilis</i>
<i>Herpes simplex virus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i>	

Επίσης, δεν αναμένεται καμία διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με τα είδη Mycoplasma και Ureaplasma.

15. ΣΥΝΟΨΗ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης (SSP) για αυτό το ιατροτεχνολογικό προϊόν είναι/θα είναι διαθέσιμη στην ευρωπαϊκή βάση δεδομένων για ιατροτεχνολογικά προϊόντα (Eudamed, https://ec.europa.eu/tools/eudamed), όπου συνδέεται με το βασικό UDI-DI του ιατροτεχνολογικού προϊόντος (5032384ImagenChlamydiaW7).

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
- Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J. 5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
- Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
- Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
- Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
- Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
- Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
- Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
- Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681

- Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.
- CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39**: 932-935.
- Chlamydial Infections (1986)**
Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.
From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.
- Galen, R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
- Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92-5
- Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.
Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, no. 3, 977-986

	
	Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, H.B.

Για τυχόν απορίες, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα.

www.thermofisher.com

Έκδοση	Ημερομηνία εισαγωγής τροποποιήσεων
X7847C	Ιούνιος 2023 Ενημέρωση ώστε να πληρούνται οι απαιτήσεις IVDR

Τυπώθηκε στο H.B.

ET



Võtmekood TSMX7847C
www.oxid.com/ifu

Euroopa +800 135 79 135 USA 1 855 2360 190
Kanada 1 855 805 8539 Muud riigid: +31 20 794 7071

IMAGEN™ Chlamydia

REF	K610111-2	▽ 50
------------	-----------------	--------------------------------

1. SIHTOTSTARVE

Analüüs IMAGEN™ Chlamydia on kvalitatiivne immunofluorestsentsanalüüs klamüüdia antigeeni leidmiseks ja identifitseerimiseks otse kliinilistest proovidest (inimese urogenitaalsetest ja oftalmoloogilistest proovidest) või kinnitamiseks pärast rakukultuuris kasvatamist. Analüüsi kasutatakse diagnostika töövoos, et aidata kliinikel leida ravivõimalusi patsientidele, kellel kahtlustatakse klamüüdiainfektsiooni. Seade pole automatiseeritud, on ainult ametialaseks kasutamiseks ja ei ole sobivusdiagnostikaseade.

IVD –*In vitro* diagnostikaks. Ainult ametialaseks kasutuseks.

2. KOKKUVÕTE

Klamüüdiad on obligatoorselt intratsellulaarsed parasiidid, mis on tihedalt seotud gramnegatiivsete bakteritega¹. Perekonnas *Chlamydia* on kolm tuntud liiki: *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) ja *Chlamydia pneumoniae* (*TWAR*).

Klamüüdiate elutsükel on keeruline, kuid eristatakse kahte peamist struktuuri: nakkuslikku elementaarkeha ja võrkkeha. Raku nakatumine algab sellest, et elementaarkeha kinnitub peremeesraku pinnale ja siseneb raku endotsütoosi teel. Elementaarne keha kasvab peremeesraku membraani moodustatud vakuoolis ja diferentseerub retikulaarkehaks. Retikulaarkeha on seotud eranditult klamüüdiate paljunemisega ja jaguneb pooldumise teel, kasutades peremeesraku energiat. Umbes 24 tundi pärast nakatumist diferentseeruvad retikulaarkehad laienevas inkluosioonis, moodustades elementaarkehi. Paljunemistsükkel kestab 48–72 tundi ja lõpeb inkluosiooni rebenemise ning elementaarkehade vabanemisega. Kõpses inkluosioonis võib olla ligikaudu 10⁴ klamüüdia elementaarkeha ja see võib hõivata 75% peremeesraku mahust.

C. trachomatis on tunnistatud sagedaseks sugulisel teel levivate haiguste^{1,2} põhjustajaks ja on tõestatud, et see võib põhjustada inimeste mitmesuguseid infektsioone, millest mõned võivad olla asüptomaatilised.

Täiskasvanutel võib *C. trachomatis* põhjustada ka ägedat või alaägedat follikulaarset konjunktiviiti, mis võib areneda punktikujuliseks keratidiiks. Vahel võib tekkida armistumine ja endeemiline trahhoom. Enamik neist sümptomitest tekib patsientidel, kellel on tuvastamata genitaalinfektsioon^{1,3}. Lisaks on tüsisüst *Ophthalmia neonatorum*, mida esineb nakatunud emalt sündinud lastel.

Anatoomilised kohad, millest tavaliselt võetakse proovid klamüüdia diagnoosimiseks, hõlmavad konjunktivi, emakakaela ja ureetrat. Meestel, eriti noorukitel ja asümptomaatilistel meestel, keda uuritakse järelkontrollis kontaktide väljaselgitamiseks, ei pruugi invasiivne ureetra tampooniproov olla võimalik. Sellistel juhtudel on soovitatud võtta proov uriinijoa algusest ja uurida tsentrifuugitud sadet⁴. Lisaks on otseselt uuritud respiratoorseid proove (nt röga) *C. psittaci* ja *C. pneumoniae* tuvastamiseks hingamisteede infektsioonide uurimisel^{5,6}.

Praegu on 3 peamist diagnostilist meetodit kliinilistes proovides klamüüdia tuvastamiseks. Esimene on organismi isoleerimise ja visualiseerimise teel, mille käigus kliinilistes proovides esinevad elujõulised elementaarkehad nakatavad koekultuurirakke ja saadud inkluosioonid tuvastatakse värvimismeetoditega, nt joodi või immunofluorestsentsiga. Teine võimalus on kasutada fluorestseiniiga märgistatud monoklonaalset antikeha, mille abil saab kliinilistes proovides klamüüdiabakterid otseselt välja tuua. Kolmas meetod on ensüümi-immunoanalüüs, et määrata kliinilistes proovides klamüüdia antigeeni olemasolu⁷.

On näidatud, et otsese immunofluorestsentsi meetodid, milles kasutatakse fluorestseiniiga märgistatud monoklonaalseid antikehi^{8,9,10}, korreleeruvad *C. trachomatis*-e tuvastamisel hästi rakukultuurimeetoditega.

Analüüs IMAGEN Chlamydia on otsene immunofluorestsentsianalüüs kliinilistes proovides või rakukultuurides klamüüdiate tuvastamiseks ja identifitseerimiseks. Analüüsis kasutatakse perekonnaspetsiifilist monoklonaalset antikeha klamüüdia lipopolüsahhariidi antigeeni vastu, mis esineb kõigis teadaolevates klamüüdia tüvedes.

3. ANALÜÜSI PÕHIMÕTE

Analüüsi IMAGEN Chlamydia reaktiiv sisaldab fluorestseiini isotiotsüanaadiga (FITC) konjugeeritud monoklonaalseid antikehi. Perekonnaspetsiifiline monoklonaalne antikeha tuvastab *C. Trachomatis*-e kõigist inimese teada olevatest serotüüpidest elementaarkehad ning *C. psittaci* ja *C. Pneumoniae* tüved.

Konjugeeritud antikeha kasutatakse ühe etapiga otsese immunofluorestsentsi meetodis. Proove inkubeeritakse FITC-ga konjugeeritud reaktiiviga 15 minutit. Seejärel eemaldatakse üleliigne reaktiiv fosfaatpuhverdatud soolalahusega (PBS – *phosphate buffered saline*) pestes, värvunud alad kinnitatakse ja neid vaadatakse epifluorestsentsvalgustusega. Kui kliinilises proovis leidub klamüüdiaid, on need nähtavad eredalt õunroheliste fluorestseeruvate elementaarkehadena, mis on vastandvärvitud materjali taustal kontrastsed. FITC-ga konjugeeritud monoklonaalse antikehaga värvitud nakatunud rakukultuuride monokihtides on heledad õunrohelised intratsütoplasmaatilised klamüüdia inkluosioonid, mis on vastandvärvitud rakumaterjali taustal kontrastsed.

Kinnitus

Monoklonaalsed antikehad pärinevad Cambridge'i Ülikooli patoloogiaosakonnast (Cambridge, Ühendkuningriik) ja Kliiniliste Uuringute Keskuse nakkushaiguste osakonnast (Harrow, Middlesex, Ühendkuningriik).

4. DEFINITSIOONID

Tooteteabes on kasutatud järgmisi sümboleid.

REF	Katalooginumber
IVD	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
	Tutvuge kasutusjuhendiga
	Temperatuuripiirangud (ladustustemperatuur)
N	Sisaldab piisavalt kogust <N> analüüsi jaoks
	Pole ette nähtud patsiendi vahetus läheduses analüüsimiseks
	Mitte kasutada korduvalt
LOT	Partiikood
	Aegumiskuupäev
	Importija
UDI	Seadme kordumatu identifitseerimistunnus
EC REP	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses
	Euroopa vastavushindamine
	Tootja

5. KAASAS OLEVAD REAKTIIVID



Igaskomplektisonpiisavaltmaterjali50rakukultuuripreparaadi analüüsimiseks. Komplekti säilivusaeg on märgitud väliskarbi etiketil.

Tõrke korral ärge kasutage seadet.

Ohujuhtumid

Kõigist seadmega seotud ohujuhtumitest tuleb teavitada tootjat ja selle liikmesriigi pädevat asutust, kus kasutaja ja/ või patsient asuvad.

5.1. IMAGEN Chlamydia REAKTIIVID

	Kasutusjuhend
POSITIVE CONTROL SLIDE	2 × 1 süvendiga positiivse kontrollmaterjali alusklaas, millel on atsetooniga kinnitatud hiire sidekoe rakud (L929), mis on nakatunud <i>C. trachomatis</i> -e tüvega L ₁ .

Üks pudel järgnevaid aineid:

MOUNTING FLUID	3 ml kinnitusvedelikku. Kinnitusvedelik sisaldab glütseroolilahuses (pH 10,0) olevat fotopleekumise inhibiitorit.
REAGENT	1,4 ml analüüsi IMAGEN Chlamydia reaktiivi. Reaktiiv sisaldab puhastatud hiire monoklonaalset FITC-ga konjugeeritud antikeha, mis on perekonna Chlamydia suhtes spetsiifiline.

5.2. KOMPLEKTI KOMPONENTIDE ETTEVALMISTAMINE, LADUSTAMINE JA TAASKASUTAMINE

Komplekti optimaalse toimimise tagamiseks on oluline, et kõiki kasutamata komplekti komponente hoitaks järgmiste juhiste kohaselt.

5.3. POSITIIVSE KONTROLLMATERJALI ALUSKLAASID – POSITIVE CONTROL SLIDE

Positiivse kontrollmaterjali alusklaasid tarnitakse ükshaaval suletud lämmastikku sisaldavates fooliumpakendites. Hoidke kasutamata alusklaase temperatuuril 2–8 °C. Enne avamist tuleb alusklaasi hoida 5 minutit toatemperatuuril (15–30 °C).

Värvige alusklaas kohe pärast avamist.

5.4. KINNITUSVEDELIK – MOUNTING FLUID

Kasutusvalmis Hoidke kasutamata kinnitusvedelikku temperatuuril 2–8 °C. Kinnitusvedelikku tuleb enne kasutamist hoida 5 minutit toatemperatuurile (15–30 °C).

5.5. REAKTIIV – REAGENT

Kasutusvalmis Hoidke kasutamata reaktiivi temperatuuril 2–8 °C. Enne kasutamist tuleb reaktiivi hoida 5 minutit toatemperatuuril (15–30 °C).

6. LISAREAKTIIVID

6.1. REAKTIIVID

Värske atsetoon (fikseerimiseks)

Fosfaatpuhverdatud soolalahus (PBS) pH 7,5 värvitud proovide ja monokihtide pesemiseks.

6.2. LISATARVIKUD

Järgmised tooted on ette nähtud kasutamiseks koos analüüsiga IMAGEN Chlamydia. Lisateabe saamiseks võtke ühendust kohaliku turustajaga.

Mikroskoobi teflonkattega alusklaasid ühe 6 mm läbimõõduga süvendiga (100 alusklaasi karbis) on saadaval kohalikult turustajalt (kood nr S611430-6).

IMAGEN Chlamydia positiivse kontrollmaterjali alusklaasid (kood nr. S610930-2).

7. SEADMED

Vaja läheb järgmisi seadmeid.

Gradueeritud pipett ja ühekordsed otsakud 25 µl edastamiseks Pesuvann

6 mm läbimõõduga süvendi katmiseks sobivad katteklasid

Mittefluorestseeruv immersioonõli

Epifluorestsentsmikroskoop koos FITC-filtrisüsteemiga (suurim ergastuse lainepikkus 490 nm, keskmine kiirguslainepikkus 520 nm) ja läätssed suurendusega 200× kuni 400× ning 600× kuni 1000×.

Niiskuskambriga inkubaator temperatuuril 37 °C.

Väikse kiirusega tsentrifuug

Rakukultuur

Steriilsed tampoonid ja transpordikeskkond, mis sobivad klamüüdiate kogumiseks, transportimiseks ja kultiveerimiseks Klamüüdia isoleerimiseks soovitatavad rakukultuuriliinid

8. ETTEVAATUSABINÕUD

8.1. OHUTUSABINÕUD

8.1.1 Analüüsi IMAGEN Chlamydia reaktiiv sisaldab < 0,1% mürgist naatriumasiidi. Naatriumasiid võib reageerida vask- ja pliitorustikuga ning moodustada väga plahvatusohtlikke metalliasiide. Asiidi sisaldavad materjalid tuleb alati kõrvaldada, loputades neid suure hulga veega.

8.1.2 Positiivse kontrollmaterjali alusklaasidel olevad klamüüdiad on osutunud rakukultuuris mittenakkuslikuks, kuid alusklaase tuleb siiski käidelda ja hävitada nii, nagu need oleksid potentsiaalselt nakkuslikud.

8.1.3 Reaktiivis on sinine värvaine Evans. Kuigi värvaine kontsentratsioon on madalam kui toote kantserogeensena klassifitseerimiseks vajalik, tuleb vältida selle kokkupuudet nahaga.

8.1.4 Kinnitusvedeliku kasutamisel tuleb olla ettevaatlik, sest see sisaldab teadaolevalt nahka ärritavat ainet. Kuigi selle kontsentratsioon on madalam kui toote ärritust tekitava ainaena klassifitseerimiseks vajalik, tuleb nahka kokkupuute korral veega loputada.

8.1.5 AnalüüsiIMAGENChlamydia reaktiivsisaldab inimese immunoglobuliini. See materjal on osutunud HIV, C-hepatiidi ja B-hepatiidi pinnaantigeeni antikehade suhtes negatiivseks, kuid sellegipoolest tuleb seda käsitseda ettevaatlikult ja käsitleda potentsiaalselt nakkusohhtliku materjalina.

8.1.6 Ärge sööge, jooge, suitsetage, hoidke või valmistage toitu ega kasutage kosmeetikat ettenähtud tööpiirkonnas.

8.1.7 Ärge pipettige suuga.

8.1.8 Kandke kliiniliste proovide ja nakatunud rakkude käitlemisel ühekordselt kasutatavaid kindaid ja peske alati käsi pärast nakkusohhtlike materjalidega töötamist.

8.1.9 Hävitage kõik kliinilised proovid kohalikke õigusakte järgides.

8.1.10 Ametialasele kasutajale on taotluse korral saadaval ohutuskardiid.

8.2. TEHNILISED ETTEVATUSABINÕUD

8.2.1 Koostisosi ei tohi kasutada pärast etikettidele trükitud kõlblikkusaega. Ärge segage ega vahetage eri reaktiivipartiisid.

8.2.2 Reaktiivid tarnitakse fikseeritud töökonsentratsioonides. Analüüsi toimivus halveneb, kui reaktiive hoitakse muudes kui jaotises 5 kirjeldatud tingimustes.

8.2.3 Valmistage värske fosfaadiga puhverdatud soolalahus (PBS) kasutamise päeval vastavalt vajadusele.

8.2.4 Vajalik on PBS-is pesemine. Muude pesulahuste, näiteks kraanivee või destilleeritud vee kasutamine, rikub analüüsitulemusi.

8.2.5 Vältige reaktiivide mikroobset saastumist.

8.2.6 Reaktiive ei tohi külmutada.

9. PROOVIDE KOGUMINE JA ETTEVALMISTAMINE^{7,8}

Meeste ureetrast, naiste emakakaelast ja konjunktivist kogutud proovid peavad sisaldama võimalikult palju epiteelirakke, sest klamüüdiad on rakusisesed organismid, mis nakatavad epiteelpindu¹.

9.1. KLIINILISED PROOVID

9.1.1 Ureetraproovid (meestelt)

Võtke ureetrast tampooniproov, sisestades alginaadi või vatitsaga õhukese tampooni 2–4 cm sügavusele ureetrasse. Pöörake tampooni mitu korda ja tõmmake see ureetrast välja.

9.1.2 Emakakaela proovid (naistelt)

Enne emakakaelast proovi võtmist puhastage emakakaela ava steriilse marliga, et eemaldada liigne lima, veri/mäda jne. Tupsutage emakakaela sisemust, kasutades alginaadi või vatitsaga tampooni või tsütoloogiaharja umbes 1 cm sügavusel emakakaela kanalis. Pöörake tampooni mitu korda kuup- ja silinderepiteeli ühinemiskohas ning tõmmake tampoon välja nii, et see ei puudutaks tupe pindu.

9.1.3 Oftalmoloogilised proovid

Kandke silma lokaalanesteetikum, seejärel paljastage konjuktiivi üla- ja alaosa. Kasutades puuvillast või Dacron™-otsaga tampooni, pühkige tugevalt nii ülemist kui ka alumist konjuktiivi pinda, pöörates tampooni proovivõtu ajal, et tagada kogu konjuktiivi pinnalt proovi võtmine.

9.1.4 Alusklaaside ettevalmistamine

Veeretage proovivõtu tampooni kergelt surudes mikroskoobi alusklaasil oleva 6 mm augu piirkonnas. Veenduge, et kasutate alusklaasi ettevalmistamiseks kogu tampooni otsa. Laske proovil toatemperatuuril (15–30 °C) põhjalikult õhu käes kuivada ja fikseerige seejärel 10 minutit värskes atsetoonis. Laske alusklaasil õhu käes kuivada. Kui proovi ei värvita kohe, säilitage seda üleöö temperatuuril 2–8 °C või külmutage temperatuuril –20 °C kuni 2 kuud.

9.2. RAKUKULTUURI MONOKIHID

Kasutage rakukultuuri kasvatamiseks McCoy rakkude nakatamise ja nendes kasvatamise väljakujunenud laboratoorset meetodit^{9,14,15}.

Eemaldage monokihi pinnalt sööde. Ärge laske rakkudel kuivada, sest inkluosioonid võivad lõhkeda. Fikseerige monokihti kohe 10 minutit värskes metanoolis, seejärel kuivatage see hoolikalt kuivatuspaberi abil.

Parimate tulemuste saamiseks tuleb fikseeritud monokihte kohe värvida ja uurida.

10. ANALÜÜSIPROTSEDUUR

VAADAKE ENNE ANALÜÜSIMIST JAOTIST 8.2 „TEHNILISED ETTEVAATUSABINÕUD“.

10.1. REAKTIIVI LISAMINE

Lisage fikseeritud proovi ägele (vt jaotis 9.1), fikseeritud rakukultuuri monokihile (vt jaotis 9.2) või positiivse kontrollmaterjali alusklaasile 25 µl reaktiivi. Veenduge, et reaktiiv kataks kogu süvendi ala.

10.2. ESIMENE INKUBEERIMINE

Inkubeerige reaktiiviga alusklaase **niiskuskambris 15 minutit** temperatuuril **37 °C**. **Ärge** laske reaktiivil proovi peal kuivada, sest see põhjustab mittespetsiifilise värvumise.

10.3. ALUSKLAASI PESEMIN

Peske üleliigne reaktiiv fosfaatpuhverdatud soolalahusega (PBS) maha, seejärel peske alusklaasi ettevaatlikult PBS-i sisaldavas segamisvannis 5 minutit. Laske PBS-il ära voolata ja laske alusklaasil toatemperatuuril (15–30 °C) õhu käes kuivada.

10.4. KINNITUSVEDELIKU LISAMINE

Lisage iga süvendi keskele üks tilk kinnitusvedelikku ning asetage kinnitusvedeliku ja proovi peale katteklaas nii, et selle alla ei jääks õhumulle.

10.5. ALUSKLAASI ANALÜÜSIMINE

Uurige kogu värvitud proovi sisaldavat ala epifluorestsentsmikroskoobiga. Jaotises 11 kirjeldatud fluorestsents peab olema nähtav 600×kuni 1000×suurendusel. (Parimate tulemuste saamiseks tuleb alusklaase kohe värvida ja uurida).

11. ANALÜÜSI TULEMUSTE TÕLGENDAMINE

11.1. KONTROLLMATERJALID

11.1.1 Positiivse kontrollmaterjali alusklaasid

Jaotises 10 kirjeldatud viisil vaadeldes peaksid positiivse kontrollmaterjali alusklaasil olema näha rakuvälised elementaarkehad, mis paistavad väga väikeste heledate õunroheliste fluorestseeruvate sileservaliste ketastena, mille läbimõõt on ligikaudu 300 nm. Rakuväliseid elementaarkehi saab vaadelda punaste vastandvärvitud rakkude ja rakujääkide taustal. Võib näha teisi rakuvälistest elementaarkehadest 2–3 korda suuremaid klamüüdia vorme, millest mõned fluorestseeruvad ühtlaselt või on tumeda keskosaga, mida ümbritseb õunrohelise fluorestsentsi halo. Need võivad olla klamüüdia vahelvormid või retikulaarkehad. Vahel võib täheldada suuri eredalt fluorestseeruvaid terveid intratsütoplasmaatilisi klamüüdia inkluasioone.

11.1.2 Negatiivne kontrollmaterjal

Kui on vaja negatiivset kontrollmaterjali, soovitatakse kasutada klamüüdia kultiveerimiseks ja isoleerimiseks kasutatavaid terveid või rebenenud rakke, mis ei ole nakatunud. Rakud tuleb ette valmistada ja fikseerida, nagu on kirjeldatud jaotises 9.2, ning värvida, nagu on kirjeldatud jaotises 10.

11.2. KLIINILISED PROOVID

11.2.1 Klamüüdiakehade välimus

Ekstratsellulaarsed elementaarkehad on kliinilistes proovides kõige sagedamini esinevad klamüüdia vormid, mis ilmnevad heledate õunroheliste sileservaliste kehadena, mille läbimõõt on ligikaudu 300 nm, nagu on kirjeldatud jaotises 11.1.1.

11.2.2 Tulemuste tõlgendamine

Diagnoos on positiivne, kui fikseeritud ja värvitud proovides on vähemalt 10 klamüüdiakeha. See tase on soovitatav, et vähendada valepositiivseid tulemusi, mis tulenevad mittespetsiifilise fluorestsentsi valesti tõlgendamisest. Enne negatiivse tulemuse teatamist peavad süvendis olema näha vastandvärvitud rakud. Need võivad olla terved või rebenenud kuup- ja silinderepiteeli rakud või vahel polümorfonukleaarsed leukotsüüdid. Rakumaterjali puudumine võib viidata proovivõtu kehvale kvaliteedile ja on soovitatav võtta kordusproovid.

11.2.3 Mittespetsiifiline fluorestsents

Ebakorrapärase kujuga materjali, mis erineb morfoloogiliselt jaotises 11.1.1 kirjeldatud klamüüdia kehadest ja mis fluorestseerub pigem valgeks, punaseks või kollaseks kui õunroheliseks, tuleb pidada mittespetsiifiliseks värvumiseks.

11.3. RAKUKULTUURI KINNITUS

11.3.1 Klamüüdia inkluosioonide välimus

Intratsellulaarsed klamüüdia inkluosioonid esinevad nakatunud rakkude tsütoplasmas heledate õunroheliste kotikestena. Inkluusioon võib võtta enda alla kuni 75% peremeesraku tsütoplastmast.

11.3.2 Tõlgendus

Diagnoos on positiivne, kui monokihis on näha üht või enamat värvitud intratsellulaarset klamüüdia inkluusiooni.

12. TOIMIVUSPIIRANGUD

12.1. Saadud fluorestsentspildi visuaalne välimus võib erineda olenevalt kasutatava mikroskoobi ja valgusallika tüübist.

12.2. Kasutage ainult kaasas olevat kinnitusvedelikku.

12.3. 6 mm läbimõõduga süvendi pindala katmiseks on soovitatav kasutada 25 µl reaktiivi. Väiksem kogus võib põhjustada raskusi proovipinna katmisel ja vähendada analüüsi tundlikkust.

12.4. Kõik reaktiivid tarnitakse fikseeritud töökonsentratsioonides. Analüüsi tulemused võivad halveneda, kui reaktiive muudetakse mis tahes viisil või kui neid ei säilitata jaotises 5 soovitatud tingimustes.

12.5. Rakukultuuris klamüüdia tuvastamata jätmine võib olla tingitud sellistest teguritest, nagu näiteks proovi võtmine haiguskuulu valel ajal, vale proovivõtt ja/või proovi käitlemine, rakukultuuri nurjumine jne. Negatiivne tulemus ei välista klamüüdiainfektsiooni võimalust.

12.6. Antigeenide tuvastamise süsteeme nagu IMAGEN Chlamydia ei tohi kasutada kohtumeditsiinilistel juhtudel teabe saamiseks. Seksuaalse kuritarvitamise kahtluse hindamisel või muudes olukordades, kus antigeene tuvastavate süsteemide valepositiivne tulemuse võimalus on vastuvõetamatu, peab kasutama ainult standardseid klamüüdiakultuure¹¹.

12.7. Klamüüdia esinemine kliinilistes proovides ei välista samaaegse nakatumise võimalust teiste haigustekitajatega. Analüüsitulemusi tuleb

13. OODATAVAD TULEMUSED

Klamüüdiainfektsioonide esinemissagedus uuringupopulatsioonis varieerub olenevalt uuritava populatsiooni tüübist^{1,2}. Urogenitaalse klamüüdia infektsiooni esinemissagedus valimata patsientidel, kes käivad genitaal-uroloogilise meditsiini kliinikus, jääb vahemikku 10% kuni 25%. Mittespetsiifilise uretriidi ja gonokokknakkuse järgse uretriidiga patsientidel võib esinemissagedus olla 30% kuni 60%.

Sünnitus- ja günekoloogiakliinikutes käivatel patsientidel võib esineda urogenitaalse klamüüdiainfektsiooni madalam esinemissagedus (alla 10%)^{1,12}.

Paratrahhoomi (klamüüdia-konjunktiviidi) uuringutes võib silmade klamüüdiainfektsioonide esinemissagedus olla 5% kuni 20%^{1,9}.

14. REAKTIIVSUSE TOIMIVUSNÄITAJAD

14.1. MONOKLONAALSE ANTIKEHA SPETSIIFILISUS

On näidatud, et analüüsi IMAGEN Chlamydia reaktiivis kasutatav monoklonaalne antikeha reageerib kõigile klamüüdia tüvedele ühise klamüüdia lipopolüsahhariidi antigeeni epitoobiga.

Immuokeemilise värvimise korral on mõnikord täheldatud mittespetsiifilist värvimist, mis on tingitud antikeha kristalliseeruva fragmendi ala ja mõne *Staphylococcus aureus*'e tüve toodetud valgu A vahelisest seondumisest. Analüüsi IMAGEN Chlamydia reaktiiv on loodud sellise seondumise vähendamiseks.

14.2. KLIINILINE TOIMIVUS¹³

14.2.1 Urogenitaalsed proovid

Kahes välises uuringukeskuses korraldati kliinilised uuringud analüüsi IMAGEN Chlamydia uuendatud reaktiivi (sisaldab inimese IgG-d 1 mg/ml) tulemuslikkuse hindamiseks urinogenitaalproovidest *C. trachomatis*'e tuvastamisel. Võrreldi sel ajal turul olnud testi IMAGENi Chlamydia reaktiivi (ei sisaldanud inimese IgG-d) ja tavapärase rakukultuuri toimivust *C. Trachomatis*'e tuvastamisel.

1. uuringukeskuses uuriti 117 proovi (77 meestelt ja 40 naistelt) ja 2. uuringukeskuses 100 proovi (39 meestelt ja 61 naistelt). Kõigi proovide korral võeti ainult üks tampooniproov. Pool tampooniproovist veeretati 8 mm suurusele ühe süvendiga alusklaasile. Seejärel asetati tampooniproov klamüüdiakultuuri transportsöötmesse. Alusklaasid fikseeriti toote infolehe kohaselt ja seejärel jagati süvend õhukese värvitu küünelakiga kaheks. Süvendi vasakusse poolde lisati 10 µl sobivat IMAGENi reaktiivi (uuendatud või vana preparaat). Kõik muud toimingud tehti toote infolehe kohaselt. Proov hinnati positiivseks, kui sellest leiti kümme või enam elementaarkeha. Rakukultuurina kasutati tsütohalasiin B-ga töödeldud McCoy rakkude monokihte, mida värviti Giemsa värvainega ja vaadeldi tumevälja mikroskoopia abil.

Tundlikkus, spetsiifilisus ja ennustuväärtused arvatati eeldusel, et rakukultuur on 100% tundlik ja spetsiifiline. Allpool on esitatud analüüside asjakohane tundlikkus, spetsiifilisus ja korrelatsioon.

Tabel 14.2.1A. Analüüsi IMAGEN Chlamydia uuendatud reaktiivi ja rakukultuuri võrdlus.

		Meespatsiendid		Naispatsiendid		Ühendatud andmed	
		Rakukultuur		Rakukultuur		Rakukultuur	
		+	-	+	-	+	-
Uuendatud reaktiiv – 1. uuringukeskus	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Uuendatud reaktiiv – 2. uuringukeskus	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ *Positiivne*
– *Negatiivne*

Tabel 14.2.11B. Analüüsi IMAGEN Chlamydia uuendatud reaktiivi tulemuslikkus võrreldes eelmise (vana) preparaadi tulemuslikkusega.

		Uuendatud koostis		Vana koostis	
		Toorväärtus	%	Toorväärtus	%
1. keskus	Tundlikkus	15/16	93,8%	15/16	93,8%
	Spetsiifilisus	101/101	100%	101/101	100%
	Korrelatsioon rakukultuuriga	116/117	99,1%	116/117	99,1%
	Positiivne ennustuväärtus	15/15	100%	15/15	100%
	Negatiivne ennustuväärtus	101/102	99,0%	101/102	99,0%
2. keskus	Tundlikkus	16/19	84%	17/19	89%
	Spetsiifilisus	80/81	99%	76/81	94%
	Korrelatsioon rakukultuuriga	96/100	96%	93/100	93%
	Positiivne ennustuväärtus	16/17	94%	17/22	77%
	Negatiivne ennustuväärtus	80/83	96%	76/78	97%

14.2.2 Oftalmoloogilised proovid

Analüüsi IMAGEN Chlamydia hinnati tavapärase diagnostikalaboris võrreldes olemasoleva rakukultuurisüsteemiga (eeltöödeldud McCoy raku monokihtide värvimine Giemsa värvainega pärast proovidega tüvikultuuri).

Konjunktivi tamponiproovid koguti 178 silmahaiglas käinud ägeda follikulaarse konjunktiviidiga patsiendilt; 163 olid vanuses 13–55 aastat, 3 olid imikud (10 nädalat kuni 12 kuud) ja 12 vastsündinud (12 päeva kuni 4 nädalat). Klamüüdiainfektsiooni esinemissagedus valimisse kuuluvas uuringurühmas oli 8%. Kliinikus tehti tampooniproovidest ägeda ja seejärel asetati tampooniproovid rakukultuuride hindamiseks transportsöötmesse.

Analüüsis IMAGEN Chlamydia hinnati proov positiivseks, kui leiti 10 või enam fluorestseeruvat keha (vt jaotis 11.2.2). Proov hinnati rakukultuuri analüüsis positiivseks, kui täheldati vähemalt üht värvitud intratsütoplasmaatilist inklusiooni.

Uuringu tulemused on esitatud tabelis 14.2. Analüüsitud 178 proovist saadi mõlema meetodi abil 174 juhul sama tulemus, mis tähendab, et korrelatsioon on 98%. Analüüsi IMAGENi Chlamydia tundlikkus ja spetsiifilisus olid vastavalt 100% ja 97,5%, eeldades, et rakukultuurimeetod on 100% tundlik ja spetsiifiline. Positiivsete ja negatiivsete analüüside ennustuväärtused olid vastavalt 79% ja 100%.

Tabel 14.2 Rakukultuuri ja analüüsi IMAGEN Chlamydia tulemuste võrdlus oftalmoloogiliste proovide korral

ANALÜÜS	TULEMUS			
Rakukultuur	Negatiivne	Positiivne	Positiivne	Negatiivne
IMAGEN Chlamydia	Negatiivne	Positiivne	Negatiivne	Positiivne
Proovide arv	159	15	0	4*

* Need proovid võeti patsientidelt, kes said antibiootikumiravi. See võis rakukultuuri tulemusi rikkuda⁹.

14.2.3 Rakukultuuri kinnitus

Analüüsi IMAGEN Chlamydia hinnati rakukultuuri kinnitamise analüüsina võrreldes kahe tavapäraselt kasutatava kultuuride kinnitamise värvimistoiminguga (Giemsa ja jood). 132 urogenitaalproovi inokuleeriti 3-jododeoksüuridiiniga töödeldud McCoy rakkude katteklaasi (kestviaali) monokihtidele. Inokuleeritud monokihti inkubeeriti temperatuuril 37 °C 48–72 tundi, seejärel fikseeriti 10 minutit metanoolis.

Fikseeritud monokihid värviti kas Giemsa, joodi või analüüsi IMAGEN Chlamydia reaktiiviga. Proov hinnati positiivseks, kui mikroskoobi abil täheldati vähemalt üht värvitud intratsütoplasmaatilist inklusiooni.

Uuringu tulemused on esitatud tabelis 14.3. 132 analüüsitud proovist 56-l (42%) tekkisid inklusioonid. Joodiga värvides tuvastati klamüüdia 46 proovist, Värvainega Giemsa värvides 49 proovist ja analüüsiga IMAGEN Chlamydia 56 proovist.

Tabel 14.3 Värvimismeetodite võrdlus klamüüdia inklusioonide avastamiseks kestviaali kultuuris

ANALÜÜS	TULEMUS				
IMAGEN Chlamydia	Positiivne	Negatiivne	Positiivne	Positiivne	Positiivne
Giemsa värvimine	Positiivne	Negatiivne	Negatiivne	Positiivne	Negatiivne
Joodiga värvimine	Positiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Positiivne
Proovide arv	42	76	3	7	4

14.3. RISTREAKTIIVSUS

On tõestatud, et analüüsis IMAGEN Chlamydia kasutatav monoklonaalne antikeha ei reageeri järgmiste mikroorganismide suhtes.

<i>Acinetobacter calcoaceticus var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> (0124 kasutatud)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. Equisimilis</i>

Herpes simplex virus
Klebsiella aerogenes
Streptococcus pyogenes

Lisaks ei ole oodata ristreaktiivsust mükoplasma ja ureaplasma liikidega.

15. OHUTUSE JA TOIMIVUSE KOKKUVÕTE

Seadme ohutuse ja toimivuse kokkuvõte on või saab olema kättesaadav Euroopa meditsiiniseadmete andmebaasis (Eudamed, https://ec.europa.eu/tools/eudamed), kus see on seotudseadmepõhi-UDI-DI-ga(5032384ImagenChlamydiaW7).

16. VIITED

- Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
- Schachter, J. ja Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
Trükis: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J.
5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
- Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
- Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
- Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
- Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
- Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
- Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
- Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. ja Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677–681
- Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. ja Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.
- CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39**: 932-935.

- Chlamydial Infections (1986)**
Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., ja Ward, M.
Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.

- Galen, R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. Trükis: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
- Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92–5
- Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.
Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, no. 3, 977-986





Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Ühendkuningriik

Kõigi päringute korral võtke ühendust kohaliku turustajaga.

www.thermofisher.com

Version	Muudatuste tegemise kuupäev
X7847C	Juuni 2023 Ajakohastatud IVDR-i nõuete täitmiseks

Trükitud Ühendkuningriigis

- 12.6. Les systèmes de détection d'antigènes comme le test IMAGEN Chlamydia ne doivent pas être utilisés pour obtenir des informations dans le cadre d'affaires médico-légales. Seules les cultures standard de Chlamydia peuvent être utilisées pour évaluer des cas supposés d'agression ou autres dans lesquels l'éventualité d'un résultat positif erroné obtenu avec les systèmes de détection d'antigènes est inacceptable¹¹.
- 12.7. La présence de Chlamydia dans les échantillons cliniques n'exclut pas nécessairement la possibilité d'une infection concomitante due à d'autres pathogènes. Les résultats doivent être interprétés conjointement aux informations recueillies à partir des études épidémiologiques, de l'examen clinique du patient et d'autres procédures de diagnostic.

13. VALEURS ATTENDUES

Le taux de prévalence des infections à Chlamydia dans une population à l'étude varie en fonction du type de population étudié^{1,2}. Le taux de prévalence des infections urogénitales à Chlamydia pour des patients non sélectionnés, suivis par un centre de médecine génito-urinaire, varie entre 10 % et 25 %. Pour les patients soignés pour une urétrite non spécifique et une urétrite post-gonococcique, ce taux peut atteindre 30 à 60 %.

On constate un taux de prévalence d'infections urogénitales moins élevé (moins de 10 %) chez les patients suivis par des cliniques obstétriques et gynécologiques^{1,12}.

Le taux de prévalence des infections ophtalmiques à Chlamydia peut varier entre 5 % et 20 % dans le cadre d'études consacrées au paratrachome (conjonctivite à inclusions)^{1,9}.

14. CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES EN MATIÈRE DE RÉACTIVITÉ

14.1. SPÉCIFICITÉ DE L'ANTICORPS MONOCLONAL

Il a été démontré que l'anticorps monoclonal utilisé dans le réactif IMAGEN Chlamydia réagissait avec un épitope de l'antigène lipopolysaccharide de Chlamydia commun à toutes les souches de Chlamydiae.

Une coloration non spécifique apparaît parfois lors de la coloration immunochimique en raison de liaisons entre les régions Fc de l'anticorps et la protéine A produite par certaines souches de *Staphylococcus aureus*. Le réactif IMAGEN Chlamydia a été conçu pour réduire ces liaisons.

14.2. PERFORMANCES CLINIQUES¹³

14.2.1 Échantillons urogénitaux

Des essais cliniques ont été réalisés au sein de deux sites externes afin d'évaluer les performances de la nouvelle formulation du réactif IMAGEN Chlamydia (contenant des IgG humaines à 1 mg/ml) pour la détection de *C. trachomatis* à partir d'échantillons urogénitaux. Les performances ont été comparées à celles du réactif IMAGEN Chlamydia qui était sur le marché à ce moment-là (sans IgG humaine) et de la culture cellulaire de routine pour *C. trachomatis*.

117 échantillons (77 hommes et 40 femmes) ont été testés dans le centre 1 et 100 échantillons (39 hommes et 61 femmes) dans le centre 2. Un seul prélèvement par écouvillon a été effectué pour tous les échantillons. La moitié de l'écouvillon a été roulée sur lune lame à puits unique de 8 mm. L'écouvillon a ensuite été placé dans le milieu de transport de la culture de Chlamydia. Les lames ont été fixées comme décrit dans la brochure d'information du produit, puis le puits a été divisé en deux à l'aide d'une fine ligne de vernis à ongles incolore. Un volume de 10 µl de réactif IMAGEN approprié (nouvelle ou ancienne formulation) a été ajouté à la moitié correspondante du puits. Toutes les autres étapes ont été réalisées conformément à la brochure d'information du produit. Un échantillon était considéré comme positif lorsqu'au moins dix corps élémentaires étaient observés. Pour la culture cellulaire, les monocouches de cellules McCoy traitées à cytochalasine B ont été colorées au Giemsa et observées au microscope à fond noir.

La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives ont été calculées en partant du principe que la culture cellulaire était entièrement sensible et spécifique. La sensibilité, la spécificité et la corrélation des tests en question sont indiquées ci-dessous.

Tableau 14.2.1A. Comparaison de la nouvelle formulation du réactif IMAGEN Chlamydia et de la culture cellulaire.

		Patients de sexe masculin		Patients de sexe féminin		Données combinées	
		Culture cellulaire		Culture cellulaire		Culture cellulaire	
		+	-	+	-	+	-
Nouvelle formulation du réactif – Centre 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Nouvelle formulation du réactif – Centre 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ Positif

- Négatif

Tableau 14.2.11B. Performances de la nouvelle formulation du réactif IMAGEN Chlamydia par rapport à la formulation précédente (ancienne formulation).

		Nouvelle formulation		Ancienne formulation	
		Valeur brute	%	Valeur brute	%
Centre 1	Sensibilité	15/16	93,8 %	15/16	93,8 %
	Spécificité	101/101	100 %	101/101	100 %
	Corrélation avec la culture	116/117	99,1 %	116/117	99,1 %
	Valeur prédictive positive	15/15	100 %	15/15	100 %
	Valeur prédictive négative	101/102	99,0 %	101/102	99,0 %
Centre 2	Sensibilité	16/19	84 %	17/19	89 %
	Spécificité	80/81	99 %	76/81	94 %
	Corrélation avec la culture	96/100	96 %	93/100	93 %
	Valeur prédictive positive	16/17	94 %	17/22	77 %
	Valeur prédictive négative	80/83	96 %	76/78	97 %

14.2.2 Échantillons ophtalmiques

Le test IMAGEN Chlamydia a été évalué dans un laboratoire de diagnostic de routine par rapport à un système de culture cellulaire reconnu (coloration au Giemsa de monocouches de cellules McCoy prétraitées après culture primaire avec des échantillons).

Des échantillons conjonctifs ont été prélevés sur 178 patients atteints de conjonctivite folliculaire aiguë fréquentant un service d'ophtalmologie, parmi lesquels 163 patients âgés de 13 à 55 ans, 3 bébés (âgés de 10 semaines à 12 mois) et 12 nouveau-nés (âgés de 12 jours à 4 semaines). Le taux de prévalence d'infections à Chlamydia dans le groupe de population étudié atteignait 8 %. Des frottis ont été réalisés à partir de prélèvements par écouvillon à la clinique. Les écouvillons ont ensuite été placés dans un milieu de transport en vue de l'évaluation de la culture cellulaire.

Un échantillon était considéré comme positif selon le test IMAGEN Chlamydia lorsqu'au moins 10 corps fluorescents étaient observés (voir section 11.2.2). Un échantillon était considéré comme positif selon le test de la culture cellulaire lorsqu'au moins une inclusion intracytoplasmique colorée était observée.

Le tableau 14.2 reprend les résultats de cet essai. Sur les 178 échantillons testés, le même résultat a été obtenu avec les deux méthodes dans 174 cas, soit une corrélation de 98 %. La sensibilité et la spécificité du test IMAGEN Chlamydia atteignaient respectivement 100 % et 97,5 %, en partant du principe que la méthode par culture cellulaire était entièrement sensible et spécifique. Les valeurs prédictives pour les tests positifs et négatifs étaient respectivement de 79 % et de 100 %.

Tableau 14.2 Comparaison des résultats du test selon la culture cellulaire et selon le test IMAGEN Chlamydia sur des échantillons ophtalmiques

TEST	RÉSULTAT			
Culture cellulaire	Négatif	Positif	Positif	Négatif
IMAGEN Chlamydia	Négatif	Positif	Négatif	Positif
Nombre d'échantillons	159	15	0	4*

* Ces échantillons ont été prélevés sur des patients soumis à un traitement par antibiotiques. Ce traitement a pu influencer le résultat de la culture cellulaire⁹.

14.2.3 Confirmation de la culture cellulaire

Le test IMAGEN Chlamydia a été évalué en tant que test de confirmation de culture par rapport à deux procédures de confirmation de culture généralement utilisées (Giemsa et iode). 132 échantillons urogénitaux ont chacun été inoculés sur trois monocouches de lamelles couvre-objets (flacon cylindrique) de cellules McCoy traitées à l'iododéoxyuridine. Les monocouches inoculées ont été incubées à 37°C pendant 48 à 72 heures, puis fixées dans du méthanol pendant 10 minutes.

Les monocouches fixées ont ensuite été colorées au Giemsa, à l'iode ou au réactif du test IMAGEN Chlamydia. Un échantillon était considéré comme positif lorsqu'au moins une inclusion intracytoplasmique colorée était observée au microscope.

Le tableau 14.3 reprend les résultats de cet essai. Sur les 132 échantillons testés, 56 (42 %) ont développé des corps d'inclusion. La coloration à l'iode a décelé la bactérie Chlamydia dans 46 échantillons, la coloration au Giemsa dans 49 échantillons et la coloration au réactif IMAGEN Chlamydia dans 56 échantillons.

Tableau 14.3 Comparaison des méthodes de coloration pour la détection des inclusions de Chlamydia dans la culture en flacons cylindriques

TEST	RÉSULTAT				
IMAGEN Chlamydia	Positif	Négatif	Positif	Positif	Positif
Coloration au Giemsa	Positif	Négatif	Négatif	Positif	Négatif
Coloration à l'iode	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
Nombre d'échantillons	42	76	3	7	4

14.3. RÉACTIVITÉ CROISÉE

Il a été démontré que l'anticorps monoclonal utilisé pour le test IMAGEN Chlamydia ne réagissait pas avec les micro-organismes répertoriés ci-dessous.

<i>Acinetobacter calcoaceticus var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli (type 0124 utilisé)</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>
<i>Virus de l'herpès simplex</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i>	

De plus, aucune réactivité croisée n'est attendue avec les espèces Mycoplasma et Ureaplasma.

15. RÉSUMÉ DE LA SÉCURITÉ ET DES PERFORMANCES

Le résumé de la sécurité et des performances (SSP) de ce dispositif est / sera disponible dans la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed, https://ec.europa.eu/tools/eudamed), où il est lié à l'IUD-ID de base du dispositif (5032384ImagenChlamydiaW7).

16. RÉFÉRENCES

- Chlamydial Disease (1983)**
Éd. Darougar S
British Medical Bulletin **39** : 107-203.
- Schachter J. et Dawson C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
Tiré de : Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Éd.s : Lennene E.H. et Schmidt N.J. 5e édition. American Public Health Association. 1021-1059.
- Goh B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232** : 813-818.
- Caul E.O., Paul I.D., Milne J.D. et Crowley T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11** : 1246-1247.
- Sillis M. et White P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43** : 260-262.
- Hammerschlag M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol. 11** : N° 1, janvier 1992.

- Pugh S.F., Slack R.C.B., Caul E.O., Paul I.D., Appleton P.N. et Gatley S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38** : 1139-1141.
- Alexander I., Paul I. D. et Caul E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61** : 252-254.
- Potts M.J., Paul I.D., Roome A.P.C.H. et Caul E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70** : 677-681
- Thornley M.J., Zamze S.E., Byrne M.D., Lusher M. et Evans R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131** : 7-15.
- CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39** : 932-935.
- Chlamydial Infections (1986)**
Éds Oriel D., Ridgway G., Schachter J., Taylor-Robinson D. et Ward M.
From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.
- Galen R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. Tiré de : Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
- Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections **56** : 92-5
- Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.
Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, n° 3, 977-986



CE 2797

ThermoFisher



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Royaume-Uni

Pour toute question, veuillez contacter votre distributeur local.

www.thermofisher.com

Version	Date des modifications
X7847C	Juin 2023
	Mise à jour afin de répondre aux exigences en matière d'IVDR

Imprimé au Royaume-Uni

Šifra ključa TSMX7847C
www.oxid.com/ifu

Europa +800 135 79 135 SAD 1 855 2360 190

CA 1 855 805 8539 OSTATAK SVIJETA +31 20 794 7071

IMAGEN™ Chlamydia

REF	K610111-2	▽ 50
------------	-----------------	--------------------------------

1. PREDVIĐENA UPORABA

Test IMAGEN™ Chlamydia kvalitativni je imunofluorescentni test koji se upotrebljava za otkrivanje i identifikaciju klamidijskog antigena izravno iz kliničkih uzoraka (ljudskih urogenitalnih i oftalmičkih ispitaka) ili kao potvrda nakon rasta u staničnoj kulturi. Upotrebljava se u dijagnostičkom radnom postupku kao pomoć kliničarima u odabiru opcija liječenja za pacijente za koje se sumnja da imaju infekciju klamidijom. Ovaj proizvod nije automatiziran, namijenjen je isključivo za profesionalnu uporabu i nije popratni dijagnostički test.

IVD - Za *in vitro* dijagnostičku uporabu. Samo za profesionalnu uporabu.

2. SAŽETAK

Klamidije su obligatorni intracelularni paraziti usko povezani s gram-negativnim bakterijama¹. Rod Chlamydia obuhvaća tri poznate vrste: *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) i *Chlamydia pneumoniae* (*TWAR*).

Životni ciklus klamidija je složen, ali prepoznaju se dvije glavne strukture, infektivno elementarno tjelešce i retikularno tjelešce. Infekcija stanice započinje prijanjanjem elementarnog tjelešca na površinu stanice domaćina i ulaskom u stanicu procesom endocitoze. Elementarno se tjelešce povećava unutar vakuole koju tvori stanična membrana domaćina i diferencira se u retikularno tjelešce. Retikulirano tjelešce bavi se isključivo umnažanjem klamidija i dijeli se binarnom fisijom koristeći se energijom kojom se opskrbljuje stanica domaćin. Približno 24 sata nakon infekcije retikularna se tjelešca diferenciraju unutar inkluzije koja se širi kako bi tvorila elementarna tjelešca. Ciklus replikacije traje 48 – 72 sata i završava rupturom inkluzije te oslobađanjem elementarnih tjelešaca. Zrela inkluzija može sadržavati približno 10⁴ elementarnih tjelešaca klamidije i zauzimati 75 % volumena stanice domaćina.

C. trachomatis prepoznata je kao čest uzročnik spolno prenosivih bolesti^{1,2} i pokazalo se da uzrokuje niz infekcija u ljudi, od kojih neke mogu biti asimptomatske.

U odraslih *C. trachomatis* može uzrokovati i akutni ili subakutni folikularni konjunktivitis, koji može napredovati do punktiiformnog keratitisa. Povremeno se mogu razviti ožiljci i endemski trahom. Većina navedenih simptoma razvija se u pacijenata koji imaju neprepoznate genitalne infekcije^{1,3}. Ophthalmia neonatorum također je komplikacija koja se nalazi u djece rođene od zaražene majke.

Anatomska mjesta koja se obično uzorkuju radi dijagnosticiranja klamidije uključuju konjunktivu, endocerviks i uretru. U muškaraca, osobito adolescenata i asimptomatskih muškaraca koji su ispitani nakon kontrole radi praćenja kontakta, invazivno uzimanje brisa uretre možda neće biti moguće. U takvim se slučajevima predlaže uzimanje ispitaka prvog mlaza urina i ispitivanje centrifugiranog taloga⁴. Respiratorni ispitci (npr. sputum) također su izravno ispitani radi otkrivanja *C. psittaci* i *C. pneumoniae* u ispitivanju respiratornih infekcija^{5,6}.

Trenutačno postoje 3 glavne dijagnostičke metode koje se upotrebljavaju za otkrivanje klamidije u kliničkim ispitcima. Prva uključuje izolaciju organizma i vizualizaciju, pri čemu vijabilna elementarna tjelešca prisutna u kliničkim ispitcima inficiraju stanice kulture tkiva, a rezultirajuće inkluzije otkrivaju se tehnikama bojenja, npr. primjenom joda ili imunofluorescencije. Druga metoda uključuje izravno dokazivanje klamidije u kliničkim ispitcima primjenom monoklonskog antitijela obilježenog fluoresceinom. Treća metoda uključuje enzimski imunotest za određivanje prisutnosti klamidijskog antigena u kliničkim ispitcima⁷.

Pokazalo se da tehnike izravne imunofluorescencije u kojima se primjenjuju monoklonska antitijela obilježena fluoresceinom^{8,9,10} imaju dobru korelaciju u usporedbi s tehnikama stanične kulture za otkrivanje *C. trachomatis*.

Test IMAGEN Chlamydia izravni je imunofluorescentni test za otkrivanje i identifikaciju klamidija u kliničkim ispitcima ili staničnim kulturama. Test upotrebljava rodno specifično monoklonsko antitijelo na lipopolisaharidni antigen klamidije prisutan u svim poznatim sojevima klamidije.

3. NAČELO TESTA

Reagens testa IMAGEN Chlamydia sadržava monoklonsko antitijelo konjugirano fluorescein izotiocijanatom (FITC). Rodno specifično monoklonsko antitijelo otkrit će elementarna tjelešca iz svih poznatih humanih serovara *C. trachomatis*, kao i sojeva *C. psittaci* te *C. pneumoniae*.

Konjugirano se antitijelo upotrebljava u tehnici izravne imunofluorescencije u jednome koraku. Ispitci se inkubiraju s reagensom konjugiranim FITC-om 15 minuta. Višak reagensa zatim se uklanja ispiranjem fiziološkom otopinom puferiranom fosfatom (engl. phosphate buffered saline, PBS), a obojena područja postavljaju se i promatraju s pomoću epifluorescentnog osvjetljenja. Ako su klamidije prisutne u kliničkom ispitku, vidjet će se kao sjajna fluorescentna elementarna tjelešca boje zelene jabuke koja se razlikuju od pozadine kontrastno obojenog materijala. Jednoslojevi inficirane stanične kulture obojeni monoklonskim antitijelom konjugiranim FITC-om sadržavat će sjajne intracitoplazmatske klamidijske inkluzije boje zelene jabuke koje su u kontrastu s pozadinom kontrastno obojenog staničnog materijala.

Priznanje

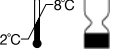
Monoklonsko antitijelo potječe s Odsjeka za patologiju Sveučilišta u Cambridgeu, Cambridge, Ujedinjena Kraljevina i Odjela zaraznih bolesti, Klinički istraživački centar, Harrow, Middlesex, Ujedinjena Kraljevina.

4. DEFINICIJE

U informacijama o proizvodu upotrijebljeni su sljedeći simboli.

REF	Kataloški broj
IVD	In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Pogledajte upute za uporabu (IFU)
	Ograničenja temperature (temp. skladištenja)
 N	Sadržava dovoljnu količinu za <N> testova
	Nije namijenjeno za testiranje u blizini pacijenta
	Nemojte ponovno upotrebljavati
LOT	Kôd serije (broj partije)
	Upotrijebiti do (datum isteka roka trajanja)
	Uvoznik
UDI	Jedinstvena identifikacija proizvoda
EC REP	Ovlašteni zastupnik u Europskoj zajednici
 	Europska ocjena sukladnosti
	Proizvođač

5. ISPORUČENI REAGENSI



Svaki komplet sadržava dovoljno materijala za testiranje 50 pripravaaka staničnih kultura. Rok trajanja kompleta naveden je na naljepnici na vanjskoj kutiji.

U slučaju neispravnog rada nemojte upotrebljavati proizvod.

Ozbiljni štetni događaji

Svaki ozbiljan štetni događaj do kojeg je došlo u vezi s proizvodom treba prijaviti proizvođaču i nadležnom tijelu države članice u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalaze.

5.1. REAGENSI IMAGEN Chlamydia

	Upute za uporabu
POSITIVE CONTROL SLIDE	2 x pozitivno kontrolno stakalce s 1 jažicom koje sadržava stanice mišjeg vezivnog tkiva fiksirane acetonom (L929) inficirane L ₁ sojem <i>C. trachomatis</i> .

Po jedna bočica sljedećeg:

MOUNTING FLUID	3 mL tekućine za postavljanje. Tekućina za postavljanje sadržava inhibitor fotoizbjeljivanja u otopini glicerola (pH10,0).
-----------------------	--

REAGENT	1,4 mL reagensa za test IMAGEN Chlamydia. Reagens sadržava pročišćeno mišje monoklonsko antitijelo specifično za rod Chlamydia konjugirano FITC-om.
----------------	---

5.2. PRIPREMA, SKLADIŠTENJE I PONOVNA UPORABA KOMPONENTI KOMPLETA

Kako bi se osigurale optimalne radne značajke kompleta, važno je da se sve neiskorištene komponente kompleta skladište u skladu sa sljedećim uputama:

5.3. POZITIVNA KONTROLNA STAKALCA – POSITIVE CONTROL SLIDE

Pozitivna kontrolna stakalca isporučuju se pojedinačno u zabrtvljenim folijskim vrećicama s dušikom. Neiskorištena stakalca skladištite pri temperaturi od 2 – 8 °C. Stakalce bi trebalo ostaviti 5 minuta na sobnoj temperaturi (15 – 30 °C) prije otvaranja.

Obojite stakalce odmah nakon otvaranja.

5.4. TEKUĆINA ZA POSTAVLJANJE – MOUNTING FLUID

Spremno za uporabu. Neiskorištenu tekućinu za postavljanje skladištite pri temperaturi od 2 – 8 °C. Tekućinu za postavljanje trebalo bi ostaviti 5 minuta na sobnoj temperaturi (15 – 30 °C) prije uporabe.

5.5. REAGENS – REAGENT

Spremno za uporabu. Neiskorišteni reagens skladištite na mračnome mjestu pri temperaturi od 2 – 8 °C. Reagens bi trebalo ostaviti 5 minuta na sobnoj temperaturi (15 – 30 °C) prije uporabe.

6. DODATNI REAGENSI

6.1. REAGENSI

Svježi aceton (za fiksiranje)

Fiziološka otopina puferirana fosfatom (PBS) pH vrijednosti 7,5 za ispiranje obojenih ispitaka i jednoslojeva.

6.2. DODATNI PRIBOR

Sljedeći su proizvodi namijenjeni za uporabu u kombinaciji s testom IMAGEN Chlamydia. Za dodatne informacije obratite se svojem lokalnom distributeru.

Mikroskopska stakalca od stakla obloženog teflonom s jednom jažicom promjera 6 mm (100 stakalaca po kutiji) dostupna kod lokalnog distributera, (kôd br. S611430-6).

IMAGEN Chlamydia Positive Control Slides (kôd br. S610930-2).

7. OPREMA

Potrebna je sljedeća oprema:

Precizna pipeta i jednokratni vršci za pipetiranje 25 µL

Kupelj za ispiranje

Pokrovna stakalca prikladna za prekrivanje jažice promjera 6 mm

Nefluorescirajuće imerzijsko ulje

Epifluorescentni mikroskop sa sustavom filtara za FITC (valna duljina maksimalne ekscitacije od 490 nm, valna duljina srednje emisije od 520 nm) i lećama za uvećanje od x200 – x400 te x600 – x1000

Inkubator pri 37 °C s vlažnom komorom

Centrifuga niske brzine

Stanična kultura

Sterilni vateni štapići i transportni medij prikladni za prikupljanje, transport i kulturu klamidija

Linije staničnih kultura preporučene za izolaciju klamidije

8. MJERE OPREZA

8.1. SIGURNOSNE MJERE OPREZA

8.1.1 Reagens za test IMAGEN Chlamydia sadržava < 0,1 % natrijeva azida, koji je otrov. Natrijev azid može reagirati sa sustavima bakrenih i olovnih cijevi te tvoriti eksplozivne metalne azide. Materijale koji sadržavaju azid uvijek odlazite u otpad tako da ih isperete obilnom količinom vode.

8.1.2 Pokazalo se da klamidije na pozitivnom kontrolnom stakalcu nisu infektivne u staničnoj kulturi; međutim, stakalcima bi trebalo rukovati i trebalo bi ih odlagati u otpad kao da su potencijalno infektivna.

8.1.3 U reagensu se nalazi Evans plava boja. Iako ona nije prisutna u koncentraciji koja bi mogla klasificirati proizvod kao kancerogen, kontakt s kožom treba izbjegavati.

8.1.4 Potrebno je paziti pri uporabi tekućine za postavljanje jer sadržava poznati iritans kože. Iako on nije prisutan u koncentraciji koja bi mogla klasificirati proizvod kao iritans, kožu bi trebalo isprati vodom ako dođe do kontakta.

8.1.5 Reagens za test IMAGEN Chlamydia sadržava humani imunoglobulin. Pokazalo se da je taj materijal negativan na prisutnost antitijela na površinski antigen HIV-a, hepatitisa C i hepatitisa B; međutim, njime je svejedno potrebno rukovati s oprezom i smatrati ga potencijalno infektivnim.

8.1.6 Nemojte jesti, piti, pušiti, držati ili pripremati hranu ili nanositi kozmetičke proizvode unutar prostora namijenjenog za rad.

8.1.7 Nemojte ustima pipetirati materijale.

8.1.8 Nosite jednokratne rukavice prilikom rukovanja kliničkim ispitcima i inficiranim stanicama i uvijek operite ruke nakon rada s infektivnim materijalima.

8.1.9 Odložite sve kliničke ispitke u otpad u skladu s lokalnim zakonodavstvom.

8.1.10 Sigurnosno-tehnički list dostupan je na zahtjev za profesionalne korisnike.

8.2. TEHNIČKE MJERE OPREZA

8.2.1 Komponente se ne smiju upotrebljavati nakon isteka datuma tiskanog na naljepnicama. Nemojte miješati ili međusobno mijenjati različite serije/partije reagensa.

8.2.2 Reagensi se isporučuju u fiksiranim radnim koncentracijama. Ako se reagensi skladište u uvjetima koji se razlikuju od onih navedenih u odjeljku 5., to će nepovoljno utjecati na radne značajke testa.

8.2.3 Pripremite svježu fiziološku otopinu puferiranu fosfatom (PBS) kako je potrebno na dan uporabe.

8.2.4 Ispiranje u PBS-u je nužno. Uporaba drugih otopina za ispiranje kao što su voda iz slavine ili destilirana voda narušit će rezultate testa.

8.2.5 Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa.

8.2.6 Reagensi se ne smiju zamrzavati.

9. PRIKUPLJANJE I PRIPREMA ISPITAKA^{7,8}

Ispitci uzeti iz muške uretre, ženskog cerviksa ili iz konjunktive moraju sadržavati što je više moguće epitelnih stanica jer su klamidije intracelularni organizmi koji inficiraju površine epitela¹.

9.1. KLINIČKI ISPITCI

9.1.1 Uretralni ispitci (muškarci)

Uzmite bris uretre umetanjem tankog štapića s vrškom od alginata ili pamučne vate 2 – 4 cm u uretru. Rotirajte štapić nekoliko puta i izvucite ga iz uretre.

9.1.2 Cervikalni ispitci (žene)

Prije uzorkovanja endocerviksa očistite cervikalni otvor sterilnom gazom kako biste uklonili višak sluzi, krv/gnoj itd. Uzmite bris endocerviksa s pomoću štapića s vrškom od alginata ili pamučne vate ili citološke četkice njihovim umetanjem približno 1 cm u cervikalni kanal. Rotirajte nekoliko puta na spoju skvamokolumnarnog epitela i izvucite štapić bez dodirivanja vaginalnih površina.

9.1.3 Oftalmički ispitci

Nanesite lokalni anestetik na oko, a zatim otkrijte gornju i donju konjunktivu. S pomoću štapića s pamučnim ili Dacron™ vrškom snažno obrišite i gornju i donju površinu konjunktive, rotirajući štapić tijekom procesa uzorkovanja kako biste bili sigurni da je uzorkovana cijela površina konjunktive.

9.1.4 Priprema stakalaca

Provaljajte štapić s ispitkom uz primjenu laganog pritiska unutar područja jažice veličine 6 mm na mikroskopskom stakalcu. Pobrinite se da se cijeli vršak štapića upotrijebi za pripremu stakalca. Ostavite uzorak da se temeljito osuši na zraku na sobnoj temperaturi (15 – 30 °C), a zatim ga fiksirajte u svježem acetonu 10 minuta. Ostavite stakalce da se osuši na zraku. Ako se ispitak ne oboji odmah, pohranite ga preko noći na 2 – 8 °C ili ga zamrznite na –20 °C na najviše 2 mjeseca.

9.2. JEDNOSLOJEVI STANIČNE KULTURE

Za rast stanične kulture upotrebljavajte utvrđene laboratorijske metode za inokulaciju i rast u McCoyevim stanicama^{9,14,15}.

Uklonite medij s površine jednosloja. Nemojte dopustiti da se stanice osuše jer bi inkluzijska tjelešca mogla prsnuti. Odmah fiksirajte jednosloj u svježem metanolu u trajanju od 10 minuta, a zatim oprezno osušite upijajućim papirom.

Za najbolje rezultate fiksirane jednoslojeve bi trebalo odmah obojiti i pregledati.

10. TESTNI POSTUPAK

POGLEDAJTE ODJELJAK 8.2. TEHNIČKE MJERE OPREZA PRIJE IZVOĐENJA TESTNOG POSTUPKA.

10.1. DODAVANJE REAGENSA

Dodajte 25 µL reagensa u fiksirani razmaz ispitka (pogledajte odjeljak 9.1.), fiksirani jednosloj stanične kulture (pogledajte odjeljak 9.2.) ili na pozitivno kontrolno stakalce. Pazite da reagens prekriva cijelo područje jažice.

10.2. PRVA INKUBACIJA

Inkubirajte stakalca s reagensom u **vlažnoj komori 15 minuta na 37 °C**. **Nemojte** dopustiti da se reagens osuši na ispitku jer će to uzrokovati pojavu nespecifičnog bojenja.

10.3. ISPIRANJE STAKALCA

Ispirite višak reagensa fiziološkom otopinom puferiranom fosfatom (PBS), a zatim pažljivo ispirite stakalce u kupelji s tresenjem koja sadržava PBS 5 minuta. Ocijedite PBS i ostavite stakalce da se osuši na zraku na sobnoj temperaturi (15 – 30 °C).

10.4. DODAVANJE TEKUĆINE ZA POSTAVLJANJE

Dodajte jednu kap tekućine za postavljanje u središte svake od jažica i postavite pokrovno stakalce preko tekućine za postavljanje i ispitka pazeći da ne ostane zarobljenih mjehurića zraka.

10.5. OČITAVANJE STAKALCA

Pregledajte cijelo područje jažice koje sadržava obojeni ispitak s pomoću epifluorescentnog mikroskopa. Fluorescencija, kako je opisana u odjeljku 11., trebala bi biti vidljiva pri uvećanju od x600 – x1000. (Za najbolje rezultate stakalca bi trebalo odmah obojiti i pregledati).

11. TUMAČENJE REZULTATA TESTA

11.1. KONTROLE

11.1.1 Pozitivna kontrolna stakalca

Kad se gleda kako je opisano u odjeljku 10., pozitivno kontrolno stakalce trebalo bi prikazivati izvanstanična elementarna tjelešca (engl. elementary body, EB) koja izgledaju kao vrlo mali sjajni fluorescentni diskovi boje zelene jabuke s glatkim rubovima promjera približno 300 nm. EB-ovi se mogu promatrati na pozadini kontrastno obojenih crvenih stanica i staničnih ostataka. Mogu se vidjeti i drugi klamidijski oblici 2 – 3 puta veći od EB-a, od kojih neki ravnomjerno fluoresciraju ili imaju tamna središta okružena aureolom fluorescencije boje zelene jabuke. To mogu biti intermedijarni oblici klamidije ili retikularna tjelešca. Povremeno se mogu uočiti velike sjajne fluorescentne netaknute intracitoplazmatske klamidijske inkluzije.

11.1.2 Negativna kontrola

Ako je potrebna negativna kontrola, preporučuju se neinficirane netaknute ili puknute stanice one vrste koja se upotrebljava za kulturu i izolaciju klamidije. Stanice bi trebalo pripremiti i fiksirati kako je opisano u odjeljku 9.2. te obojiti kako je opisano u odjeljku 10.

11.2. KLINIČKI ISPITCI

11.2.1 Izgled klamidijskih tjelešaca

Izvanstanična elementarna tjelešca najčešći su oblik klamidije u kliničkim ispitcima i pojavljuju se kao sjajna tjelešca boje zelene jabuke s glatkim rubovima promjera približno 300 nm, kao što je opisano u odjeljku 11.1.1.

11.2.2 Tumačenje rezultata

Pozitivna dijagnoza postavlja se kada fiksirani, obojeni ispitci pokažu najmanje 10 klamidijskih tjelešaca. Ta se razina preporučuje kako bi se smanjili lažno pozitivni rezultati zbog pogrešnog tumačenja nespecifične fluorescencije. Kontrastno obojene stanice moraju biti vidljive u jažici prije nego što se objave negativni rezultati. Te stanice mogu biti netaknute ili puknute stanice kolumnarnog i skvamoznog epitela ili povremeno polimorfonuklearni leukociti. Odsutnost staničnog materijala može ukazivati na lošu kvalitetu prikupljanja ispitka te se preporučuje ponovno uzorkovanje.

11.2.3 Nespecifična fluorescencija

Materijal nepravilnog oblika koji se morfologijom razlikuje od tjelešaca klamidije opisanih u odjeljku 11.1.1. te fluorescira bijelo, crveno ili žuto, a ne boje zelene jabuke, treba smatrati nespecifičnim bojenjem.

11.3. POTVRĐIVANJE STANIČNE KULTURE

11.3.1 Izgled klamidijskih inkluzija

Intracelularne klamidijske inkluzije pojavljuju se kao sjajne vrećice boje zelene jabuke unutar citoplazme inficiranih stanica. Inkluzija može zauzimati do 75 % citoplazme stanice domaćina.

11.3.2 Tumačenje

Pozitivna dijagnoza postavlja se kada se u jednosloju vidi jedna ili više obojenih intracelularnih klamidijskih inkluzija.

12. OGRANIČENJA RADNIH ZNAČAJKI

12.1. Vizualni izgled dobivene fluorescentne slike može varirati ovisno o vrsti mikroskopa i izvora svjetla koji se upotrebljava.

12.2. Upotrebljavajte samo isporučenu tekućinu za postavljanje.

12.3. Preporučuje se da se upotrijebi 25 µL reagensa za prekrivanje područja jažice promjera 6 mm. Smanjivanje tog volumena može dovesti do poteškoća u prekrivanju područja ispitka te može smanjiti osjetljivost.

12.4. Svi se reagensi isporučuju u fiksiranim radnim koncentracijama. Na radne značajke testa može utjecati ako su reagensi na bilo koji način modificirani ili nisu skladišteni u preporučenim uvjetima kako je navedeno u odjeljku 5.

12.5. Neuspješno otkrivanje klamidije u staničnoj kulturi može biti rezultat čimbenika kao što je uzimanje ispitka u neprikladno vrijeme bolesti, nepravilno uzorkovanje i/ili rukovanje ispitkom, neuspjeh stanične kulture itd. Negativan rezultat ne isključuje mogućnost infekcije klamidijom.

12.6. Sustavi za otkrivanje antigena kao što je IMAGEN Chlamydia ne bi se trebali upotrebljavati za pružanje informacija u medicinsko-pravnim slučajevima. Samo standardne kulture klamidije trebale bi se upotrebljavati u procjeni sumnje na zlostavljanje ili drugih situacija u kojima je mogućnost lažno pozitivnog rezultata sa sustavima za otkrivanje antigena neprihvatljiva¹¹.

Niža prevalencija urogenitalne klamidijske infekcije (manje od 10 %) može se naći u populaciji pacijenata koji posjećuju klinike za opstetriciju i ginekologiju^{1,12}.

Prevalencija oftalmičkih infekcija klamidijom može varirati između 5 % do 20 % u studijama paratrahoma (inkluzijski konjunktivitis)^{1,9}.

14. RADNE ZNAČAJKE REAKTIVNOSTI

14.1. SPECIFIČNOST MONOKLONSKOG ANTITIJELA

Pokazalo se da monoklonsko antitijelo korišteno u reagensu za test IMAGEN Chlamydia reagira s epitopom klamidijskog lipopolisaharidnog antigena koji je zajednički svim sojevima klamidije.

Nespecifično bojenje ponekad se opaža u imunokemijskom bojenju zbog vezivanja između Fc regija antitijela i proteina A koji proizvode neki sojevi *Staphylococcus aureus*. Reagens za test IMAGEN Chlamydia dizajniran je da smanji takvo vezivanje.

14.2. KLINIČKE RADNE ZNAČAJKE¹³

14.2.1 Urogenitalni ispitci

Klinička ispitivanja provedena su u dva vanjska centra kako bi se procijenile radne značajke reformuliranog reagensa za test IMAGEN Chlamydia (sadržava humani IgG pri 1 mg/mL) za otkrivanje *C. trachomatis* u urogenitalnim ispitcima. Radne značajke uspoređene su s reagensom za test IMAGEN Chlamydia koji je u to vrijeme bio na tržištu (bez humanog IgG) i rutinskom staničnom kulturom za *C. trachomatis*.

U Centru 1 testirano je 117 ispitaka (77 muških i 40 ženskih), dok je u Centru 2 ispitano 100 ispitaka (39 muških i 61 ženski). Za sve je ispitke uzet samo jedan bris. Polovica brisa provaljana je po stakalcu s jednom jažicom od 8 mm. Bris je zatim postavljen u transportni medij za kulturu klamidije. Stakalca su fiksirana kao što je opisano u uputama o proizvodu, a zatim je jažica podijeljena na dva dijela tankom linijom bezbojnog laka za nokte. Volumen od 10 µL odgovarajućeg reagensa IMAGEN (reformuliranog ili stare formulacije) dodan je u odgovarajuću polovicu jažice. Svi ostali koraci izvedeni su u skladu s uputama o proizvodu. Uzorak je imao pozitivan rezultat ako je uočeno deset ili više elementarnih tjelešaca. Za staničnu kulturu, jednoslojevi McCoyevih stanica tretiranih citohalazinom B obojeni su Giemsa-bojom i promatrani mikroskopijom tamnog polja.

Osjetljivost, specifičnost i prediktivne vrijednosti izračunate su pod pretpostavkom da je stanična kultura 100 % osjetljiva i specifična. Relevantna osjetljivost, specifičnost i korelacija testova prikazani su u nastavku.

Tablica 14.2.1A. Usporedba reformuliranog reagensa za test IMAGEN Chlamydia i stanične kulture.

		Muški pacijenti		Ženski pacijenti		Objedinjeni podaci	
		Stanična kultura		Stanična kultura		Stanična kultura	
		+	-	+	-	+	-
Reformulirani reagens – Centar 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Reformulirani reagens – Centar 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ *Pozitivno*

– *Negativno*

Tablica 14.2.11B. Radne značajke reformuliranog reagensa za test IMAGEN Chlamydia u odnosu na prethodnu (staru) formulaciju

		Reformulirani		Stara formulacija	
		Neobrađena vrijednost	%	Neobrađena vrijednost	%
Centar 1	Osjetljivost	15/16	93,8 %	15/16	93,8 %
	Specifičnost	101/101	100 %	101/101	100 %
	Korelacija s kulturom	116/117	99,1 %	116/117	99,1 %
	Pozitivna prediktivna vrijednost	15/15	100 %	15/15	100 %
	Negativna prediktivna vrijednost	101/102	99,0 %	101/102	99,0 %
Centar 2	Osjetljivost	16/19	84 %	17/19	89 %
	Specifičnost	80/81	99 %	76/81	94 %
	Korelacija s kulturom	96/100	96 %	93/100	93 %
	Pozitivna prediktivna vrijednost	16/17	94 %	17/22	77 %
	Negativna prediktivna vrijednost	80/83	96 %	76/78	97 %

14.2.2 Oftalmički ispitci

Test IMAGEN Chlamydia procijenjen je u rutinskom dijagnostičkom laboratoriju u usporedbi s uspostavljenim sustavom stanične kulture (bojenje po Giemsi prethodno tretiranih jednoslojeva McCoyevih stanica nakon primarne kulture s ispitcima).

Brisovi konjunktive uzeti su od 178 pacijenata s akutnim folikularnim konjunktivitisom koji su posjećivali očne bolnice; 163 su bila u dobi od 13 – 55 godina, 3 su bile bebe (10 tjedana – 12 mjeseci) i 12 novorođenčadi (12 dana – 4 tjedna). Učestalost infekcije klamidijom u uzorkovanoj populacijskoj skupini bila je 8 %. Razmazi su napravljeni od brisova ispitaka u klinici, a brisovi su zatim stavljeni u transportni medij radi procjene stanične kulture.

Ispitak je ocijenjen kao pozitivan u testu IMAGEN Chlamydia kada je primijećeno 10 ili više fluorescirajućih tjelešaca (pogledajte odjeljak 11.2.2.). Ispitak je imao pozitivan rezultat u testu stanične kulture kada je uočena barem jedna obojena intracitoplazmatska inkluzija.

Rezultati ovog ispitivanja prikazani su u tablici 14.2. Od 178 testiranih ispitaka, jednak je rezultat dobiven objema metodama u 174 slučaja, što je korelacija od 98 %. Osjetljivost i specifičnost testa IMAGEN Chlamydia iznosile su 100 % odnosno 97,5 %, pod pretpostavkom da je metoda stanične kulture bila 100 % osjetljiva i specifična. Prediktivne vrijednosti za pozitivne i negativne testove iznosile su 79 % odnosno 100 %.

Tablica 14.2. Usporedba rezultata testa dobivenih s pomoću stanične kulture i testa IMAGEN Chlamydia na oftalmičkim ispitcima

TEST	REZULTAT			
Stanična kultura	Negativan	Pozitivan	Pozitivan	Negativan
IMAGEN Chlamydia	Negativan	Pozitivan	Negativan	Pozitivan
Broj ispitaka	159	15	0	4*

* Ovi ispitsci uzeti su od pacijenata koji primaju antibiotsku terapiju. To je moglo utjecati na rezultat stanične kulture⁹.

14.2.3 Potvrđivanje stanične kulture

Test IMAGEN Chlamydia ocijenjen je kao test za potvrdu kulture u usporedbi s 2 rutinski korištena postupka bojenja za potvrdu kulture (Giemsa i jod). Svaki od 132 urogenitalna uzorka inokuliran je na 3 jednosloja McCoyevih stanica tretiranih jododeoksiuridinom (uzorak centrifugiran na staničnu kulturu (engl. shell vial)) s pokrovnim stakalcem. Inokulirani jednoslojevi inkubirani su pri 37 °C u razdoblju od 48 do 72 sata, a zatim su fiksirani u metanolu 10 minuta.

Fiksirani jednoslojevi obojeni su Giemsa-bojom, jodom ili reagensom za test IMAGEN Chlamydia. Ispitak je imao pozitivan rezultat kada je mikroskopski uočena barem jedna obojena intracitoplazmatska inkluzija.

Rezultati ovog ispitivanja prikazani su u tablici 14.3. Od 132 testirana ispitka, 56 (42 %) razvilo je inkluzijska tjelešca. Bojenjem jodom otkrivena je klamidija u 46 ispitaka, bojenjem po Giemsi u 49 ispitaka, a testom IMAGEN Chlamydia u 56 ispitaka.

Tablica 14.3. Usporedba metoda bojenja za otkrivanje klamidijskih inkluzija u uzorku centrifugiranom na staničnu kulturu (engl. shell vial)

TEST	REZULTAT				
IMAGEN Chlamydia	Pozitivan	Negativan	Pozitivan	Pozitivan	Pozitivan
Bojenje po Giemsi	Pozitivan	Negativan	Negativan	Pozitivan	Negativan
Bojenje jodom	Pozitivan	Negativan	Negativan	Negativan	Pozitivan
Broj ispitaka	42	76	3	7	4

14.3. KRIŽNA REAKTIVNOST

Pokazalo se da monoklonsko antitijelo koje se upotrebljava u testu IMAGEN Chlamydia nije reaktivno na sljedeće mikroorganizme.

<i>Acinetobacter calcoaceticus var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> (upotrijebljen soj 0124)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. Equisimilis</i>

Herpes simplex virus

Klebsiella aerogenes

Osim toga, ne očekuje se križna reaktivnost s vrstama Mycoplasma i Ureaplasma.

15. SAŽETAK O SIGURNOSTI I UČINKOVITOSTI

Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti (engl. Summary of Safety and Performance, SSP) za ovaj proizvod je / bit će dostupan u europskoj bazi podataka o medicinskim proizvodima (Eudamed, https://ec.europa.eu/tools/eudamed), gdje je povezan s osnovnim brojem UDI-DI proizvoda (5032384ImagenChlamydiaW7).

16. REFERENCE

- Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
- Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J. 5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
- Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
- Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
- Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
- Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
- Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
- Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
- Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681
- Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.

11. CDC Report (1991)

False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.

Morbidity and Mortality **39**: 932-935.

12. Chlamydial Infections (1986)

Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.

From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.

13. Galen, R.S. (1982)

Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.

14. Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)

Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.

British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92-5

15. Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)

Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.

Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, no. 3, 977-986

	
	Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK
Za sva pitanja obratite se svojem lokalnom distributeru.	
www.thermofisher.com	
Verzija	Datum unesenih izmjena
X7847C	Lipanj 2023. Ažurirano kako bi se zadovoljili zahtjevi IVDR-a

Tiskano u Ujedinjenoj Kraljevini

12. LIMITI DELLE PRESTAZIONI

- 12.1. L'aspetto visivo dell'immagine di fluorescenza ottenuta può variare a seconda del tipo di microscopio e della sorgente di luce utilizzata.
- 12.2. Utilizzare solamente il mezzo di montaggio fornito.
- 12.3. Si raccomanda di utilizzare 25 µl di reagente per ricoprire un'area di pozzetto di 6 mm di diametro. Con un volume minore può risultare difficile ricoprire l'area del campione con conseguente riduzione della sensibilità.
- 12.4. Tutti i reagenti sono forniti a concentrazioni di lavoro fisse. Qualsiasi modifica nei reagenti o la conservazione non conforme a quanto indicato nella Sezione 5 può influire negativamente sulle prestazioni del test.
- 12.5. La mancata rilevazione di Chlamydia nella coltura cellulare può essere causata da diversi fattori quali la raccolta del campione in un momento inappropriato della malattia, il campionamento e/o la manipolazione incorretti del campione, l'assenza di coltura cellulare, ecc. Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione da clamidie.
- 12.6. I sistemi di ricerca di antigeni come IMAGEN Chlamydia non devono essere utilizzati per fornire informazioni in ambito medico-legale. Nella valutazione di sospetto abuso o in altre situazioni in cui la possibilità di un risultato falso positivo con i sistemi di ricerca di antigeni sia inaccettabile, si devono utilizzare esclusivamente colture di Chlamydia standard¹¹.
- 12.7. La presenza di Chlamydia nei campioni clinici non esclude necessariamente la possibilità di una concomitante infezione da altri patogeni. I risultati del test devono essere interpretati contestualmente alle informazioni disponibili negli studi epidemiologici, alla valutazione clinica del paziente e alle altre procedure diagnostiche.

13. VALORI ATTESI

La prevalenza di infezioni da Chlamydia in una popolazione oggetto di studio varia secondo il tipo di popolazione esaminata^{1,2}. La prevalenza di infezioni urogenitali da Chlamydia in pazienti non selezionati di una clinica di medicina genito-urinaria può variare tra il 10% e il 25%. Per pazienti della stessa clinica affetti da uretrite non specifica e da uretrite post-gonococcica la prevalenza può arrivare fino al 30%-60%.

Una prevalenza minore di infezioni urogenitali da Chlamydia (inferiore al 10%) può essere riscontrata in popolazioni di pazienti di cliniche ostetriche e ginecologiche^{1,12}.

La prevalenza di infezioni oftalmiche da Chlamydia può variare tra il 5% e il 20% in studi di paratracoma (congiuntivite da inclusi)¹⁻⁹.

14. CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI DI REATTIVITÀ

14.1. SPECIFICITÀ DELL'ANTICORPO MONOCLONALE

È stato dimostrato che l'anticorpo monoclonale utilizzato nel reagente di IMAGEN Chlamydia reagisce con un epitopo dell'antigene lipopolisaccaride clamidiale comune a tutti i ceppi di clamidie.

Una colorazione non specifica talvolta osservata in colorazione immunochimica è attribuibile al legame tra le regioni Fc dell'anticorpo e la proteina A prodotta da alcuni ceppi di *Staphylococcus aureus*. Il reagente di IMAGEN Chlamydia è stato progettato per ridurre tale legame.

14.2. PRESTAZIONI CLINICHE¹³

14.2.1 Campioni urogenitali

Sono stati condotti studi clinici presso due siti esterni per valutare le prestazioni del reagente IMAGEN Chlamydia riformulato (contiene IgG umane a 1 mg/ml) per la ricerca di *C. trachomatis* da campioni urogenitali. Le prestazioni sono state confrontate sia con il reagente IMAGEN Chlamydia che era sul mercato all'epoca (nessuna IgG umana) sia con la coltura cellulare di routine per *C. trachomatis*.

117 campioni (77 maschi e 40 femmine) sono stati analizzati presso il Centro 1 e 100 campioni (39 maschi e 61 femmine) presso il Centro 2. Per tutti i campioni è stato prelevato un solo tampone. Metà del tampone è stato fatto rotolare su un vetrino a pozzetto singolo da 8 mm. Il tampone è stato poi collocato nel terreno di trasporto della coltura di Chlamydia. I vetrini sono stati fissati come descritto nel foglietto illustrativo del prodotto e poi il pozzetto è stato diviso in due utilizzando una sottile linea di smalto per unghie incolore. Un volume pari a 10 µl del reagente IMAGEN appropriato (riformulato o vecchia formulazione) è stato aggiunto alla metà idonea del pozzetto. Tutti gli altri passaggi sono stati eseguiti conformemente al foglietto illustrativo del prodotto. Un campione è stato valutato positivo se sono stati osservati dieci o più corpi elementari. Per la coltura cellulare, i monostrati di cellule McCoy trattati con citocalasina B sono stati colorati da Giemsa e osservati mediante microscopia in campo scuro.

La sensibilità, la specificità e i valori predittivi sono stati calcolati assumendo una sensibilità e una specificità della coltura cellulare pari al 100%. La sensibilità, la specificità e la correlazione relative dei test sono mostrate di seguito.

Tabella 14.2.1A. Confronto tra il reagente IMAGEN Chlamydia riformulato e la coltura cellulare.							
		Pazienti maschi		Pazienti femmine		Dati combinati	
		Coltura cellulare		Coltura cellulare		Coltura cellulare	
		+	-	+	-	+	-
Reagente riformulato – Centro 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Reagente riformulato – Centro 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ *Positivo*
- *Negativo*

Tabella 14.2.11B. Prestazioni del reagente IMAGEN Chlamydia riformulato rispetto alla precedente (vecchia) formulazione.

		Riformulato		Vecchia formulazione	
		Valore non elaborato	%	Valore non elaborato	%
Centro 1	Sensibilità	15/16	93,8%	15/16	93,8%
	Specificità	101/101	100%	101/101	100%
	Correlazione con la coltura	116/117	99,1%	116/117	99,1%
	Valore predittivo positivo	15/15	100%	15/15	100%
	Valore predittivo negativo	101/102	99,0%	101/102	99,0%
Centro 2	Sensibilità	16/19	84%	17/19	89%
	Specificità	80/81	99%	76/81	94%
	Correlazione con la coltura	96/100	96%	93/100	93%
	Valore predittivo positivo	16/17	94%	17/22	77%
	Valore predittivo negativo	80/83	96%	76/78	97%

14.2.2 Campioni oftalmici

Il test IMAGEN Chlamydia è stato valutato in un laboratorio di diagnostica di routine rispetto a un sistema ben noto di coltura cellulare (colorazione Giemsa di monostrati di cellule McCoy pretrattate dopo coltura primaria con campioni).

I tamponi congiuntivali sono stati raccolti da 178 pazienti di un ospedale oculistico affetti da congiuntivite follicolare acuta, dei quali 163 di età compresa tra 13 e 55 anni, 3 bambini piccoli (da 10 settimane a 12 mesi di vita) e 12 neonati (da 12 giorni a 4 settimane di vita). L'incidenza di infezioni da Chlamydia nel gruppo di popolazione analizzato era pari all'8%. Gli strisci sono stati eseguiti da tamponi di campioni presso la clinica e i tamponi sono successivamente stati adagiati in un mezzo di trasporto per la valutazione della coltura cellulare.

Un campione veniva giudicato positivo al test IMAGEN Chlamydia quando si osservavano 10 o più corpi fluorescenti (vedi Sezione 11.2.2). Un campione era giudicato positivo al test di coltura cellulare quando si osservava almeno una inclusione intracitoplasmatica colorata.

I risultati di questo studio sono riportati nella tabella 14.2. Dei 178 campioni analizzati, lo stesso risultato veniva ottenuto con i due metodi in 174 casi, con una correlazione pari al 98%. La sensibilità e la specificità totali del test IMAGEN Chlamydia risultavano pari rispettivamente al 100% e al 97,5%, presupponendo una sensibilità e una specificità dei metodi di coltura cellulare pari al 100%. I valori predittivi per i test positivi e negativi sono risultati pari rispettivamente al 79% e al 100%.

Tabella 14.2 Confronto tra i risultati del test di coltura cellulare e il test IMAGEN Chlamydia su campioni oftalmici					
RISULTATO	DEL TEST				
	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
Coltura cellulare					
IMAGEN Chlamydia	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
Numero di campioni	159	15	0		4*

* Questi campioni sono stati prelevati da pazienti in terapia antibiotica, il che può avere compromesso il risultato della coltura cellulare⁹.

14.2.3 Conferma della coltura cellulare

Il test IMAGEN Chlamydia è stato valutato come metodo di conferma di una coltura in confronto a 2 procedure di colorazione per la conferma di una coltura usate di routine (Giemsa e iodio). 132 campioni urogenitali sono stati inoculati ciascuno su 3 monostrati su coprioggetti (fiale shell) di cellule McCoy trattate con iododeossiridina. I monostrati inoculati sono stati incubati a 37 °C per 48-72 ore e successivamente fissati in metanolo per 10 minuti.

I monostrati fissati sono stati colorati con Giemsa, iodio oppure con il reagente del test IMAGEN Chlamydia. Un campione era giudicato positivo quando si osservava almeno una inclusione intracitoplasmatica colorata.

I risultati di questo studio sono riportati nella tabella 14.3. Dei 132 campioni analizzati, 56 (42%) hanno sviluppato corpi di inclusione. La colorazione con iodio ha permesso di individuare la Chlamydia in 46 di questi campioni, la colorazione Giemsa in 49 e il test IMAGEN Chlamydia in 56 campioni.

Tabella 14.3 Confronto dei metodi di colorazione per la ricerca di inclusioni clamidiali in coltura in fiale shell					
RISULTATO	DEL TEST				
	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
IMAGEN Chlamydia					
Colorazione Giemsa	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
Colorazione con iodio	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
Numero di campioni	42	76	3	7	4

14.3. REATTIVITÀ CROCIATA

È stato dimostrato che l'anticorpo monoclonale utilizzato nel test IMAGEN Chlamydia non è reattivo verso i seguenti microrganismi:

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>var anitratus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> (0124)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>subsp. Equisimilis</i>
<i>Herpes simplex virus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i>	

Inoltre, non ci si aspetta alcuna reattività crociata con le specie Mycoplasma e Ureaplasma.

15. RIEPILOGO DI SICUREZZA E PRESTAZIONI

Il riepilogo di sicurezza e prestazioni (SSP) per questo dispositivo è/sarà disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed, <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>), dove è collegato all'UDI-DI di base del dispositivo (5032384ImagenChlamydiaW7).

16. RIFERIMENTI

1. **Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
2. **Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J.
5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
3. **Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
4. **Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
5. **Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
6. **Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
7. **Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
8. **Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
9. **Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681
10. **Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.
11. **CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39**: 932-935.
12. **Chlamydial Infections (1986)**
Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.
From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.
13. **Galen, R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
14. **Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92-5
15. **Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.
Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, no. 3, 977-986



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Regno Unito

Per eventuali richieste, rivolgersi al proprio distributore locale.

www.thermofisher.com

Versione	Data delle modifiche introdotte
X7847C	Giugno 2023
Aggiornato per soddisfare i requisiti IVDR	

Stampato nel Regno Unito

11.3. POTWIERDZENIE WYNIKÓW HODOWLI KOMÓRKOWEJ

11.3.1 Wygląd wtrętów chlamydii

Wewnątrzkomórkowe wtręty chlamydii są widoczne jako jaskrawe, jabłkowiezielone woreczki znajdujące się w cytoplazmie zakażonych komórek. Wtręt może zajmować do 75% cytoplazmy komórki gospodarza.

11.3.2 Interpretacja

Diagnozę dodatnią stawia się wtedy, gdy w monowarstwie widoczny jest co najmniej jeden wybarwiony wewnątrzkomórkowy wtręt chlamydii.

12. OGRANICZENIA DOTYCZĄCE DZIAŁANIA

12.1. Uzyskany obraz fluorescencyjny może różnić się zależnie od typu mikroskopu i zastosowanego źródła światła.

12.2. Stosować wyłącznie dostarczony płyn do zatapiania.

12.3. Zaleca się, aby do pokrycia obszaru dołka o średnicy 6 mm stosować 25 µl odczynnika. Zmniejszenie tej objętości może spowodować trudności z pokryciem miejsca zajmowanego przez próbkę i zmniejszyć czułość.

12.4. Wszystkie odczynniki są dostarczane w stałych stężeniach roboczych. Jeśli odczynniki będą w jakikolwiek sposób modyfikowane lub przechowywane w warunkach innych niż zalecane w sekcji 5, może to mieć wpływ na działanie testu.

12.5. Brak wykrycia chlamydii w hodowli komórkowej może być wynikiem czynników takich jak pobranie próbki w niewłaściwym momencie choroby, nieprawidłowe pobranie i/lub przygotowanie próbki, nieudana hodowla komórkowa itp. Wynik ujemny nie wyklucza zakażenia chlamydiami.

12.6. Systemy wykrywania antygenów takie jak test IMAGEN Chlamydia nie powinny być stosowane jako źródło informacji w sprawach wymagających ekspertyzy sądowo-lekarskiej. Do oceny podejrzeń o wykorzystanie seksualne lub innych sytuacji, w których możliwość uzyskania fałszywie dodatniego wyniku przy użyciu systemów wykrywania antygenów nie jest akceptowana, należy stosować jedynie standardowe hodowle chlamydii¹¹.

12.7. Obecność chlamydii w próbkach klinicznych nie wyklucza ryzyka równoczesnego zakażenia innymi patogenami. Wyniki testu należy interpretować w połączeniu z informacjami uzyskanymi na podstawie badań epidemiologicznych, klinicznej oceny stanu pacjenta i innych procedur diagnostycznych.

13. WARTOŚCI OCZEKIWANE

Częstość występowania zakażeń chlamydą w populacjach badanych może się różnić w zależności od typu populacji badanej^{1,2}. Częstość występowania chlamydialnych zakażeń układu moczowo-płciowego w przypadku nieselekcionowanych pacjentów leczonych w klinikach chorób układu moczowo-płciowego waha się w granicach od 10% do 25%. W przypadku pacjentów z nieswoistym zapaleniem cewki moczowej lub pogonokokowym zapaleniem cewki moczowej częstość występowania może osiągać od 30% do 60%.

Niższa częstość występowania chlamydialnych zakażeń układu moczowo-płciowego (mniej niż 10%) występuje w populacjach pacjentek przyjmowanych do klinik położniczych i ginekologicznych^{1,12}.

Częstość występowania chlamydialnych zakażeń oczu w badaniach paratrachomy (wtrętowego zapalenia spojówek) może wahać się w granicach od 5% do 20%^{1,9}.

14. CHARAKTERYSTYKA POZIOMU REAKTYWNOŚCI

14.1. SWOISTOŚĆ PRZECIWCIAŁA MONOKLONALNEGO

Wykazano, że przeciwciało monoklonalne stosowane w odczynniku IMAGEN Chlamydia reaguje z epitopem antygenu lipopolisacharydowego powszechnie występującego we wszystkich szczepach bakterii chlamydii.

Podczas barwienia immunochemicznego obserwuje się czasem barwienie nieswoiste spowodowane wiązaniem fragmentów Fc przeciwciała i białka A wytwarzanego przez niektóre szczepy *Staphylococcus aureus*. Odczynnik IMAGEN Chlamydia został zaprojektowany tak, aby ograniczać występowanie wiązań tego typu.

14.2. SKUTECZNOŚĆ KLINICZNA¹³

14.2.1 Próbkı pobrane z układu moczowo-płciowego

W celu oceny skuteczności odczynnika IMAGEN Chlamydia o nowym składzie (zawierającego ludzką IgG w stężeniu 1 mg/ml) podczas wykrywania bakterii *C. trachomatis* w próbkach pobranych z układu moczowo-płciowego przeprowadzono badania kliniczne w dwóch zewnętrznych ośrodkach. Skuteczność odczynnika porównano ze skutecznością odczynnika IMAGEN Chlamydia, który był wówczas dostępny na rynku (niezawierającego ludzkiej IgG) oraz rutynowej hodowli komórkowej *C. trachomatis*.

W ośrodku 1 zbadano 117 próbek (77 próbek pobranych od mężczyzn i 40 próbek pobranych od kobiet), natomiast w ośrodku 2 zbadano 100 próbek (39 próbek pobranych od mężczyzn i 61 próbek pobranych od kobiet). W przypadku wszystkich próbek pobierano tylko jeden wymaz. Połowę wymazówki obracano na powierzchni pojedynczego dołka o średnicy 8 mm. Wymazówkę następnie przenoszono do podłoża transportowego do hodowli chlamydii. Preparaty utrwalano w sposób opisany w ulotce informacyjnej produktu, a następnie dołek dzielono na dwie części, rysując cienką linię przy użyciu bezbarwnego lakieru do paznokci. 10 µl odpowiedniego odczynnika IMAGEN (o nowym lub starym składzie) dodawano do odpowiedniej potówki dołka. Wszystkie kolejne kroki wykonywano zgodnie z ulotką informacyjną dołączoną do produktu. Próbkę oceniano jako dodatnią, gdy występowało w niej co najmniej dziesięć widocznych ciałek elementarnych. W przypadku hodowli komórkowej monowarstwy komórek McCoya barwiono metodą Giemsy i obserwowano za pomocą mikroskopii ciemnego pola.

Czułość, swoistość i wartości predykcyjne obliczono przy założeniu, że hodowla komórkowa charakteryzowała się czułością i swoistością na poziomie 100%. Poniżej przedstawiono odpowiednie wartości czułości, swoistości i korelacji dla testów.

Tabela 14.2.1A. Porównanie odczynnika IMAGEN Chlamydia o nowym składzie i hodowli komórkowej.

		Mężczyźni		Kobiety		Łączne dane	
		Hodowla komórkowa		Hodowla komórkowa		Hodowla komórkowa	
		+	-	+	-	+	-
Odczynnik o nowym składzie — ośrodek 1	+	14	0	1	0	15	0
	-	1	62	0	39	1	101
Odczynnik o nowym składzie — ośrodek 2	+	5	1	11	0	16	1
	-	2	31	1	49	3	80

+ Wynik dodatni

- Wynik ujemny

Tabela 14.2.11B. Skuteczność odczynnika IMAGEN Chlamydia o nowym składzie w porównaniu ze skutecznością odczynnika o starym (poprzednim) składzie.

		Nowy skład		Stary skład	
		Wartości surowe	%	Wartości surowe	%
Ośrodek 1	Czułość	15/16	93,8%	15/16	93,8%
	Swoistość	101/101	100%	101/101	100%
	Korelacja z hodowlą	116/117	99,1%	116/117	99,1%
	Wartość predykcyjna dodatnia	15/15	100%	15/15	100%
	Wartość predykcyjna ujemna	101/102	99,0%	101/102	99,0%
Ośrodek 2	Czułość	16/19	84%	17/19	89%
	Swoistość	80/81	99%	76/81	94%
	Korelacja z hodowlą	96/100	96%	93/100	93%
	Wartość predykcyjna dodatnia	16/17	94%	17/22	77%
	Wartość predykcyjna ujemna	80/83	96%	76/78	97%

14.2.2 Próbkı pobrane z oczu

Test IMAGEN Chlamydia był oceniany w laboratorium diagnostycznym prowadzącym rutynowe badania i porównywany z uznanym systemem hodowli komórkowej (barwienie metodą Giemsy wstępnie przygotowanych monowarstw komórek McCoya po pierwotnej hodowli z próbkami).

Wymazy ze spojówek zostały pobrane od 178 pacjentów z ostrym pęcherzykowym zapaleniem spojówek, którzy byli leczeni w szpitalu okulistycznym. 163 pacjentów było w wieku 13–55 lat, 3 pacjentów było niemowlętami (wiek od 10. tygodnia do 12. miesiąca życia), a 12 pacjentów było noworodkami (wiek od 12. dnia do 4. tygodnia życia). Częstość występowania zakażenia chlamydą w populacji, z której pochodziła badana próba, wynosiła 8%. Rozmazy wykonywano przy użyciu wymazówek z próbkami w klinikach. Następnie wymazówki umieszczano w podłożu transportowym w celu oceny hodowli komórkowej.

W przypadku testu IMAGEN Chlamydia próbka była oceniana jako dodatnia, jeżeli zaobserwowano co najmniej 10 fluoruzyjących ciałek (patrz sekcja 11.2.2). W przypadku hodowli komórkowej próbka była oceniana jako dodatnia, jeżeli zaobserwowano co najmniej jeden wybarwiony wewnątrzcytoplazmatyczny wtręt chlamydii.

Wyniki tego badania przedstawiono w Tabeli 14.2. Spośród 178 przetestowanych próbek taki sam wynik otrzymano za pomocą obu metod w 174 przypadkach; korelacja wyniosła 98%. Czułość i swoistość testu IMAGEN Chlamydia wyniosła odpowiednio 100% i 97,5%, przyjmując, że metoda hodowli komórkowej była w 100% czuła i swoista. Wartości predykcyjne dla testów dodatnich i ujemnych wynosiły odpowiednio 79% i 100%.

Tabela 14.2 Porównanie wyników uzyskanych za pomocą hodowli komórkowej oraz testu IMAGEN Chlamydia dla próbek pobranych z oczu

TEST	WYNIK			
Hodowla komórkowa	Ujemny	Dodatni	Dodatni	Ujemny
IMAGEN Chlamydia	Ujemny	Dodatni	Ujemny	Dodatni
Liczba próbek	159	15	0	4*

* Próbkı te pobrano od pacjentów poddanych leczeniu antybiotykami. Mogło to mieć niekorzystny wpływ na wynik hodowli komórkowej⁹.

14.2.3 Potwierdzenie wyników hodowli komórkowej

Test IMAGEN Chlamydia był oceniany jako test potwierdzający wyniki hodowli w porównaniu do 2 rutynowo używanych procedur barwienia potwierdzających wyniki hodowli (barwienia metodą Giemsy i jodyną). Każda ze 132 próbek pobranych z układu moczowo-płciowego była inokulowana na 3 monowarstwy komórek McCoya poddanych działaniu jododeoksyurydyny, znajdujących się na szkiełku w fiolce typu „shell vial”. Inokulowane monowarstwy były inkubowane w temperaturze 37°C przez od 48 do 72 godzin, a następnie utrwalane w metanolu przez 10 minut.

Utrwalone monowarstwy były barwione metodą Giemsy, jodyną albo odczynnikami testu IMAGEN Chlamydia. Próbka była oceniana jako dodatnia, jeżeli pod mikroskopem zaobserwowano co najmniej jeden wybarwiony wtręt wewnątrzcytoplazmatyczny.

Wyniki tego badania przedstawiono w Tabeli 14.3. Ciałka wtrętowe rozwinęły się w 56 ze 132 próbek poddanych testowi (42%). Wśród nich barwienie jodyną umożliwiło wykrycie chlamydii w 46 próbkach, barwienie metodą Giemsy w 49 próbkach, a barwienie przy użyciu testu IMAGEN Chlamydia w 56 próbkach.

Tabela 14.3 Porównanie metod barwienia w kontekście wykrywania wtrętów chlamydii w hodowli prowadzonej metodą „shell vial”

TEST	WYNIK					
IMAGEN Chlamydia	Dodatni	Ujemny	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni
Barwienie Giemsy	Dodatni	Ujemny	Ujemny	Dodatni	Dodatni	Ujemny
Barwienie jodyną	Dodatni	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Dodatni	
Liczba próbek	42	76	3	7	4	

14.3. REAKTYWNOŚĆ KRZYŻOWA

Wykazano, że przeciwciało monoklonalne stosowane w teście IMAGEN Chlamydia jest niereaktywne ze wskazanymi poniżej mikroorganizmami/wirusami.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
(użyto serotypu 0124)	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
	<i>subsp. equisimilis</i>
<i>Wirus opryszczki pospolitej</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i>	

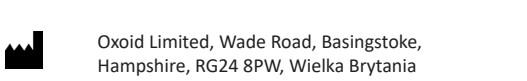
Ponadto nie przewiduje się reaktywności krzyżowej z gatunkami bakterii z rodzajów *Mycoplasma* i *Ureaplasma*.

15. PODSUMOWANIE DOTYCZĄCE BEZPIECZEŃSTWA I DZIAŁANIA

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania (SSP) tego wyrobu jest/będzie dostępne w europejskiej bazie danych o wyrobach medycznych (Eudamed, <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>). Dokument jest powiązany z kodem Basic UDI-DI wyrobu (5032384ImagenChlamydiaW7).

16. LITERATURA

- Chlamydial Disease (1983)**
Ed. Darougar S
British Medical Bulletin **39**: 107-203.
- Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/ TRIC agents.
In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J.
5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
- Goh, B. (1988)**
Chlamydia trachomatis genital infection.
The Practitioner **232**: 813-818.
- Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
- Sillis, M. and White, P. (1990)**
Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
- Hammerschlag, M.R. (1992)**
Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
- Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
- Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunofluorescence.
Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
- Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681
- Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
Journal of General Microbiology **131**: 7-15.
- CDC Report (1991)**
False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
Morbidity and Mortality **39**: 932-935.
- Chlamydial Infections (1986)**
Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.
From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.
- Galen, R.S. (1982)**
Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine. Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.
- Richmond S.J., Paul I.D., Taylor P.K. (1980)**
Value and feasibility of screening women attending STD clinics for chlamydial infections.
British Journal of Sexually Transmitted Infections 56: 92-5
- Di Pietro M., Alfano V., Filardo S., Po A., Pelloni M., Spendiani E., Paoli D., Ferretti E., Sessa R. (2020)**
Chlamydia Trachomatis elicits TLR3 expression but disrupts the inflammatory signaling down-modulating NFκB and IRF3 Transcription Factors in human Sertoli Cells.
Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents Vol. 34, no. 3, 977-986



W razie jakichkolwiek pytań należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem.

www.thermofisher.com

Wersja	Data wprowadzenia zmian
X7847C	Czerwiec 2023 r. Zaktualizowano w celu spełnienia wymogów rozporządzenia IVDR

Wydrukowano w Wielkiej Brytanii