

CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Apenas para diagnóstico *in vitro*

Teste Imunocromatográfico rápido para a detecção qualitativa de *Chlamydia trachomatis*

I. INTRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO PREVISTA

O Teste CHLAMYDIA TRACHOMATIS destina-se ao diagnóstico *in vitro* para a detecção rápida e qualitativa da *Chlamydia trachomatis* diretamente a partir de células endocervicais femininas, células uretrais e amostras de urina masculinas de pacientes sintomáticos. O teste serve de auxílio no diagnóstico de infecções por *Chlamydia*.

Chlamydia inclui três espécies: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumonia* e *Chlamydia psittaci*. A *Chlamydia trachomatis*, é um agente patogénico humano, subdividido em 15 serotipos conhecidos; 3 são associados a Linfogranuloma venéreo e os restantes 12 com infecções genito-urinárias. As complicações comuns em mulheres infetadas com *Chlamydia* incluem cervicite, uretrite, endometriose, doença inflamatória pélvica e com uma maior incidência de gravidez ectópica e infertilidade; no caso dos homens, as complicações incluem a uretrite e epididimite. A infeção por *Chlamydia trachomatis* tem uma elevada taxa de prevalência e de portadores assintomáticos. Cerca de 70% das mulheres com infecções endocervicais e até 50% dos homens com infecções uretrais são assintomáticos.

A *Chlamydia psittaci*, principalmente um agente patogénico animal, está associado a doenças respiratórias causadas por exposição a aves infetadas em que a transmissão não ocorre por interação humana.

A *Chlamydia pneumonia*, isolada pela primeira vez em 1983, é um agente patogénico humano que está associado a infecções respiratórias e a pneumonia.

A infeção por *Chlamydia* é geralmente diagnosticada através da determinação das inclusões de *Chlamydia* nos tecidos celulares.

Apesar de ser o método laboratorial mais sensível e específico, é um método caro, trabalhoso, demorado (48-72 horas) e nem sempre está disponível na maioria das instituições. O teste por imunofluorescência direta requer um equipamento especializado e um operador qualificado para interpretar os resultados. O teste CHLAMYDIA TRACHOMATIS é um imunoenensaio baseado em partículas de ouro coloidal que permite uma detecção simples, rápida, específica e ainda, altamente sensível, de antígenos de *Chlamydia*.

II. PRINCÍPIO DO TESTE

O teste CHLAMYDIA TRACHOMATIS é um imunoenensaio qualitativo rápido baseado no princípio imunocromatográfico. (No processamento do teste, a amostra clínica colhida é colocada no tubo com Solução de Extração A. Após dois minutos, adicionar ao tubo Solução de Extração B. Pipetar 3 gotas (cerca de 150µl) da amostra extraída no poço da amostra).

A membrana está revestida de anticorpos monoclonais anti-LPS (Lipopolissacárido) específicos do género, na região de teste (T) e está revestida de anticorpos de cabra anti-ratinho na região de controlo (C). Durante o teste, a amostra reage com as partículas de ouro as quais foram pré-revestidas de anticorpos monoclonais anti-*Chlamydia*. De seguida, a mistura migra lateralmente ao longo da membrana por capilaridade. Se a amostra tiver antígenos de *Chlamydia*, forma-se, na região de teste (T) da membrana, uma linha corada com o complexo ouro coloidal-anticorpo específico contra *Chlamydia*. Se não estiverem presentes antígenos de *Chlamydia* forma-se apenas uma linha rosa na região de controlo (C). Uma banda colorida surge sempre na região de controlo (C) independentemente da presença de antígenos de *Chlamydia*, como controlo do processamento do teste.

III. CONTEÚDO DO KIT CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Cada Kit contém:

1. Cassete <i>Chlamydia trachomatis</i>	20 unid
2. Solução de extração A em frasco plástico com pipeta com 0.2 M NaOH	1 x 7,5 ml
3. Solução de extração B em frasco plástico com pipeta com 0.2 M HCl	1 x 7,5 ml
4. Tubos de extração com tampa com filtro	20 unid
5. Folheto de instruções	1 conj

REAGENTES ACESSÓRIOS (Não fornecidos)

Recipiente de colheita da amostra

Zaragatoas estéreis (zaragatoas com pontas de rayon ou dracon)

Cronómetro

IV. CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

- Os componentes do Kit devem ser conservados a temperatura ambiente (4°C a 30°C).
- Não congelar o Kit.
- O CHLAMYDIA TRACHOMATIS é estável até ao fim do prazo de validade indicado no rótulo da embalagem.

V. PRECAUÇÕES

- Apenas para uso profissional e para diagnóstico *in vitro*.
- Não usar qualquer conteúdo do Kit após o fim do prazo de validade. Não misturar componentes de Kits provenientes de lotes diferentes. Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes.
- Aplicar medidas adequadas na colheita, manipulação, conservação e eliminação das amostras e componentes do Kit usados. Todas as amostras, os reagentes e controlos devem ser tratados como potencialmente infecciosos. Quando o processamento do teste estiver terminado, eliminar com precaução as zaragatoas usadas após esterilização em autoclave a 121°C durante no mínimo 20 minutos, ou após pré-tratamento com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%-1% (ou lixívia doméstica) durante uma hora.
- A solução de extração A contém hidróxido de sódio (solução básica) e a solução de extração B contém ácido clorídrico (solução ácida). Em caso de contacto com a pele ou os olhos, lavar abundantemente com água.
- Usar zaragatoas ou escovas de citologia esterilizadas para colheita de amostras endocervicais.
- Não ingerir alimentos/líquidos ou fumar no local onde as amostras e reagentes do Kit são manipulados. Usar vestuário de



- proteção, tais como a bata de laboratório e luvas descartáveis, para a colheita e processamento das amostras.
- A solução de extração contém azida de sódio o qual pode reagir com canalização de chumbo ou cobre e formar azidas de metal potencialmente explosivas. Na eliminação da solução tampão salina ou das amostras extraídas, despejar juntamente com uma quantidade abundante de água a fim de evitar a acumulação de azidas.
 - Não seguir o protocolo descrito, abreviar o método analítico, falha do dispositivo ou não interpretação correta dos resultados pode levar a uma decisão incorreta de gestão do paciente e a uma resposta de saúde inadequada. No contexto da gestão individual do paciente, um relatório falso negativo pode levar a atrasos (ou falha) no diagnóstico definitivo e de medidas adequadas de tratamento, controlo e prevenção de infeções. Se não for tratada, a infeção por clamídia pode persistir com a consequência do desenvolvimento do PID que pode levar à infertilidade. Nas mulheres grávidas, a infeção não tratada pode causar uma conjuntivite e pneumonia ao recém-nascido. A conjuntivite pode levar a uma cegueira no bebé. Um relatório falso positivo pode levar a um tratamento desnecessário ou inadequado ou a ações desnecessárias de controlo e prevenção. No pior dos casos, a consequência da infeção por clamídia não tratada pode causar danos permanentes.

VI. COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para obter o melhor desempenho do teste CHLAMYDIA TRACHOMATIS, é extremamente importante aplicar uma técnica de colheita adequada.

A) Amostras endocervicais femininas:

1. Antes da colheita da amostra, usar uma zaragatoa em separado, ou um pouco de algodão, para retirar excesso de muco da zona endocervical e eliminar. **Nota: a não remoção do excesso de muco pode resultar em resultados falso positivos.**
2. Introduzir a zaragatoa no canal endocervical passando a junção escamocolumnar, até a ponta da zaragatoa deixar de estar visível. Isto permitirá a obtenção de células epiteliais colunares ou cubóides que são o reservatório principal do organismo *Chlamydia*. Rodar a zaragatoa durante 15 a 20 segundos e retirar sem tocar em qualquer superfície vaginal.
3. Em alternativa, as amostras podem ser colhidas com escovas de citologia (não fornecidas; atenção, não usar estas escovas em pacientes grávidas) Introduzir a escova no canal endocervical passando a junção escamocolumnar. Deixar a escova no local durante dois a três segundos. Rodar a escova completamente duas vezes e de seguida retirar sem tocar em qualquer superfície vaginal.
4. Colocar a zaragatoa no tubo de extração caso o teste seja para processar de imediato.

B) Amostras uretrais masculinas:

1. Usar zaragatoas padrão com haste e ponta de fibra (não fornecido) para colher amostras uretrais. O paciente deve estar informado que não pode urinar na hora anterior à colheita da amostra.
2. Introduzir a zaragatoa a cerca de 2 a 4 cm do interior da uretra, rodar durante 3-5 segundos e retirar.
3. Colocar a zaragatoa no tubo de extração caso o teste seja para processar de imediato.
4. Não colocar a amostra em qualquer meio de transporte uma vez que este interfere com o teste.

Se o processamento imediato do teste não for possível, a amostra deve ser colocada em tubo de plástico seco para transporte. As zaragatoas devem ser conservadas a temperatura ambiente até 4 horas (10-30°C), refrigeradas até 24 horas (4-8°C). Não congelar. Todas as amostras devem ser colocadas à temperatura ambiente (10-30°C) antes de testar.

C) Amostra de urina masculina:

1. Colher 15-30 ml da primeira urina da manhã em boião esterilizado.
2. Agitar e misturar a amostra de urina uniformemente, pipetar 10 mL para um tubo de centrifugação, adicionar 10 mL de água destilada, e centrifugar durante 15-20 minutos a 3000 rpm. Descartar cuidadosamente o sobrenadante. Virar o tubo de centrifugação de cabeça para baixo e aspirar o líquido na extremidade do tubo de centrifugação com papel absorvente.
3. Se necessário, centrifugar novamente o precipitado com água destilada, de acordo com as condições acima referidas, e o precipitado será utilizado para a deteção.
4. Se não for possível efetuar o teste imediatamente, a amostra de urina pode ser refrigerada até 24 horas a 2-8°C.

VII. PROCEDIMENTO DO TESTE

Rever as instruções para colheita da amostra. Não abrir os invólucros dos testes até estar tudo preparado para executar o teste. Verificar que todos os reagentes, unidades de teste e zaragatoas, atingiram a temperatura ambiente antes de executar o teste. Para evitar contaminações cruzadas, não deixar que a zaragatoa da amostra toque na abertura do frasco de reagente ou tubos de extração.

A) EXTRAÇÃO DA AMOSTRA:

Preparação das amostras endocervicais e uretrais:

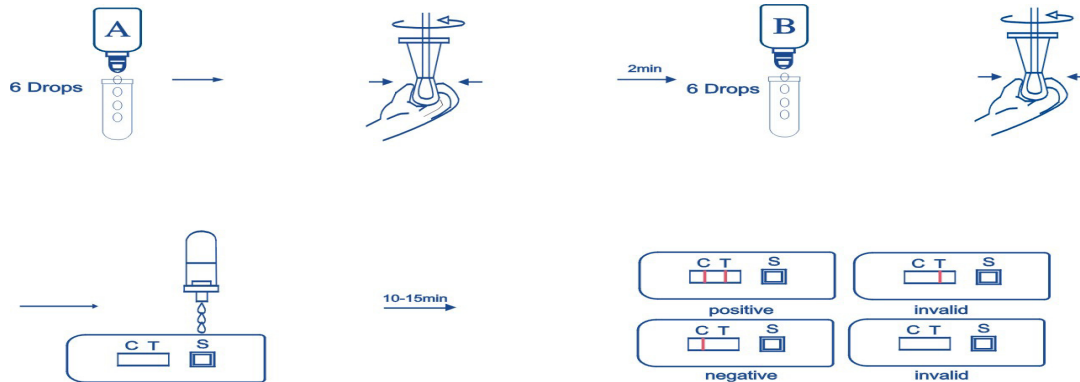
- **Zaragatoa:** Colocar um novo tubo de extração na área de trabalho. Pipetar 6 gotas de solução de extração A para o tubo de extração.
- Imergir a zaragatoa com amostra do paciente no tubo de extração durante 2 minutos à temperatura ambiente. Rodar a ponta da zaragatoa pressionando-a contra a parede do tubo a fim de espremer o líquido da ponta da zaragatoa e reabsorvê-lo.
- No fim do tempo de extração, adicionar 6 gotas de solução B. Pressionar a zaragatoa firmemente contra a parede do tubo a fim de expelir o máximo de excesso de líquido possível da zaragatoa. Eliminar a zaragatoa de acordo com as normas para eliminação de resíduos infecciosos.
- **Sedimento:** pipetar 6 gotas da solução de extração A diretamente no tubo de centrifugação e misturar bem. Transferir a solução para um tubo de extração. Adicionar 6 gotas de solução de extração B.
- A amostra extraída pode permanecer à temperatura ambiente durante 60 minutos, o que não provoca interferências no resultado do teste da *Chlamydia*.

B) PROCEDIMENTO DO TESTE

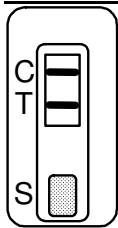
- Seguir as instruções relativas a colheita e extração da amostra.



- Remover a cassete CHLAMYDIA TRACHOMATIS do seu invólucro e colocar sob uma superfície plana, limpa e seca. Colocar a identificação do paciente ou número de controlo na cassete de teste.
- Colocar a tampa com pipeta no tubo de extração. Adicionar 3 gotas (cerca de 150 µl) da amostra extraída do tubo de extração para o poço da amostra.
- Aguardar o aparecimento da linha de teste (T). Os resultados do teste devem ser interpretados nos 10 minutos após a adição da amostra extraída ao poço da amostra. Dependendo da quantidade de organismos de antígenos de *Chlamydia* presentes na zaragatoa, um resultado positivo pode ficar visível logo após 1 minuto. Contudo, para confirmar um resultado negativo, é necessário aguardar um tempo de reação de 15 minutos. **Não interpretar os resultados após 15 minutos.**

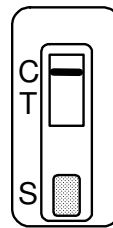


VIII. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



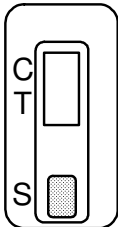
Positivo

Duas linhas coradas surgem na janela de leitura. A banda que surge na região de teste (T) é a linha de teste; a banda que surge na região de controlo (C) é a linha de controlo, a qual indica o correcto desempenho do teste. **A intensidade da cor da linha de teste pode ser inferior ou superior à da linha de controlo.**



Negativo

A linha de controlo (C) surge na janela de leitura mas a linha de teste (T) não está visível.



Inválido

Nenhuma linha aparece na região de controlo. Em nenhuma circunstância deve uma amostra ser considerada positiva sem que a linha de controlo surja na região de controlo da janela de leitura. Se a linha de controlo não surgir, o resultado é inconclusivo e o teste deve ser repetido.

IX. ELIMINAÇÃO

- Voltar a colocar a cassete de teste e conta-gotas nas bolsas originais.
- Eliminar os materiais de teste de acordo com os regulamentos locais.

X. CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

A) Exatidão

Foi realizado um estudo com 172 amostras clínicas (obtidas de 3 clínicas diferentes, incluindo amostras de zaragatoas de indivíduos do sexo feminino e masculino e amostras de urina de indivíduos do sexo masculino), as quais foram testadas com a cassete CHLAMYDIA TRACHOMATIS e um teste presente no mercado Clearview Chlamydia MF (Golden standard). Os resultados foram interpretados em 10-15 minutos.

		Clearview Chlamydia MF		Total
		+	-	
Chlamydia trachomatis test	+	74	3	77
	-	2	93	95
Total		76	96	172

Sensibilidade relativa: 97,37%

Especificidade relativa: 96,88%

Exatidão relativa: 97,1%

B) Especificidade

O anticorpo usado no teste CHLAMYDIA TRACHOMATIS permite detetar todos os 15 serotipos da *Chlamydia*. Adicionalmente, avaliou-se *Chlamydia psittaci* e *Chlamydia pneumonia* com o teste CHLAMYDIA TRACHOMATIS e os resultados foram positivos.

Foram testadas reações cruzadas com outros organismos usando suspensões de 10⁶CFU/ml. Os seguintes organismos não foram detetados com este teste:



<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Candida albicans</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus faecium</i>
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Trichomonas vaginalis</i>
Hemoglobina	Spermicidas
Gynecological Lubrificants	Talcum powder

C) Sensibilidade

Foi realizado um estudo para verificar a sensibilidade do teste CHLAMYDIA TRACHOMATIS. O teste Chlamydia Test (Clearview Chlamydia MF) disponível no mercado foi testado paralelamente usando diferentes níveis de controles de *Chlamydia* (de 0 a 15000 IFU/ml). Os resultados indicaram que a sensibilidade do CHLAMYDIA TRACHOMATIS é comparável com outros produtos disponíveis no mercado e pode detetar 4000 IFU/ml.

XI. CONTROLO DE QUALIDADE













O CHLAMYDIA TRACHOMATIS inclui um procedimento de controlo. A linha cor-de-rosa que surge na região de controlo (C) da membrana do teste indica a sua correta execução e reação dos reagentes.

XII. LIMITAÇÕES DO TESTE

- O CHLAMYDIA TRACHOMATIS é um teste apenas para uso *in vitro*. Deve ser usado apenas para a pesquisa de antígenos da *Chlamydia trachomatis* em exsudados endocervicais e uretrais ou urina de indivíduos do sexo masculino.
- Amostras com excesso de muco ou sangue podem gerar resultados falso positivos.
- Como qualquer outro teste imunológico para pesquisa de *Chlamydia trachomatis*, este teste não distingue entre organismos biologicamente ativos ou inativos.
- O CHLAMYDIA TRACHOMATIS não distingue especificamente entre *C. trachomatis*, *C. Pneumonia* ou *C. Psittaci*. A deteção de *Chlamydia* depende do número de organismos presentes na amostra. Fatores como o método de colheita da amostra ou a idade, histórico de doenças sexualmente transmissíveis, presença de sintomas do paciente, etc, podem ser fatores interferentes.
- Este teste apenas indicará a presença ou ausência de antígenos da *Chlamydia trachomatis* nas amostras e não deve ser considerado isoladamente no diagnóstico da infeção por *Chlamydia*.
- Caso os sintomas clínicos persistam apesar de resultado negativo, é necessário proceder a testes adicionais, por exemplo, pelo método de cultura de células.
- Nenhum diagnóstico deve ser baseado somente nos resultados obtidos com um único teste mas sim, num conjunto de resultados laboratoriais, estudos clínicos adicionais e histórico do paciente.

XII. BIBLIOGRAFIA

- Sanders J.W.et al Evaluation of an Enzyme Immunoassay for Detection of Chlamydia trachomatis in Urine of Asymptomatic Men.J.Clinical Microbiology,32,24-27,(1994).
- Jaschek,G.et al Direct Detection of Chlamydia trachomatis in UrineSpecimens from symptomatic and asymptomatic Men by Using a Rapid Polymerase Chain Reaction Assay.J.Clinical Microbiology,31,1209-1212,(1993).
- Schachter, J Sexually transmitted Chlamydia trachomatis infection. Postgraduate medicine,72,60-69,(1982).
- Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections-2008 (W.H.O.)
- Draft guidance for industry-Devices for Chlamydia (FDA may 2011)
- Chlamydia (Istituto superiore di sanità-Italian MOH)-italian language
- Infection by Chlamydia trachomatis (Società interdisciplinare per lo studio delle malattie sessualmente trasmesse)
- Chlamydiacea (Università degli studi di Perugia-Dipartimento di Medicina e chirurgia Anni 2011-2012)

 IVD	Dispositivo para Diagnóstico <i>in vitro</i>		Limites de temperatura	 LOT	Código de lote		Fabricante
	Consultar as instruções de utilização		Data do prazo de validade	 REF	Número de catálogo		Não reutilizar
	Conservar seco		Frágil, manipular com cuidado		Não estéril		Manter afastado da luz solar

CONTEÚDO

- | | |
|--|-------------------------|
| 1. CHLAMYDIA TRACHOMATIS | REF VQ81406 (20 testes) |
| 2. Solução de extração A em frasco plástico com pipeta com 0,2 M de hidróxido de sódio | 20 cassetes |
| 3. Solução de extração B em frasco plástico com pipeta com 0,2 M de ácido clorídrico | 1 x 7,5 ml |
| 4. Tubo de extração com tampa de filtro | 1 x 7,5 ml |
| 5. Instruções de utilização | 20 unid |
| | 1 item |

EDMA CODE 15 01 01 01 01



0483

