FLUOROTECT ® CHLAMYDIA Ref ODO19

Test za detekciju Chlamydia trachomatis metodom direktne fluorescencije

Čuvati na temperaturi od 2-8 °C.

NE ZAMRZAVATI.

Samo za in vitro upotrebu.

C.trachomatis je obligatna intracelularna bakterija koja parazitira u ćelijama mukoznih površina urogenitalnog trakta, nazofarinksa i konjuktiva. Infekcije urogenitalnog trakta izazvane hlamidijom su veoma česte i mogu biti asimptomatske, te se zbog toga ne dijagnostifikuju i ne leče. Kod muškaraca je uzročnik negonokoknog uretritisa (NGU), koji može dovesti do epididimitisa i prostatitisa. Kod žena su moguće posledice mnogo ozbiljnije, jer može doći do salpingitisa i pelvične inflamatorne bolesti, koje dovode do ektopične trudnoće. Prilikom porođaja infekcija se prenosi na novorođenče i uzrokuje pojavu intersticijalne pneumonije i konjuktivitisa.

NAMENA TESTA

Fluorotect Chlamydia test je brzi in vitro test za detekciju Chlamydia trachomatis iz uzorka metodom direktne fluorescencije.
Samo za laboratorijsku upotrebu.

PRINCIP TESTA

Fluorotect Chlamydia omogućava direktno bojenje uzorka. Svi serotipovi C. trachomatis imaju isti proteinski antigen koji se nalazi na spoljašnjoj membrani ćelijskog zida. Za detekciju ovog antigena koriste se fluoresceinom (FITC) obeležena monoklonska antitela usmerena na proteine spoljašnje membrane. FITC obeležena monoklonska antitela specifično se vezuju za C. trachomatis, koja je prisutna u metanolom fiksiranom uretralnom ili cervikalnom razmazu, koji je prethodno nanet na mikroskopsko staklo. Postupkom ispiranja, uklanja se nevezano FITC obeleženo antitelo. Kada se posmatra pod fluorescentnim mikroskopom, C. trachomatis daje svetlo zelenu fluorescenciju, koja potiče ili od retikularnih ili od elementarnih ekstracelularnih tela, koja je u kontrastu u odnosu na crveno-smeđu boju pozadine koju čine obojene ćelije.

SADRŽAJ

Ref
ODO19

Reag	DFA

Rastvor fluoresceinom obeleženog monoklonskog antitela u proteinskom puferu pH 7,4 sa bojom Evans plavo. Spremno za upotrebu.

Soln	MountingFluid	2.5 ml

Rastvor glicerola koji sadrži sredstvo koje sprečava gubitak boje preparata. Spremno za upotrebu.

Control	+	1

Pripremljene neobojene pločice sa fiksiranim ćelijama koje imaju hlamidijalna osnovna iti retikularna tela, upakovane u kesice sa desikantom. Spremno za upotrebu.
Uputstvo za upotrebu **1**

PRIBOR KOJI JE POTREBAN, ALI SE NE NALAZI U OKVIRU KOMPLETA

Metanol za fiksciju uzoraka.
Fosfatnim puferom puferizovan fiziološki rastvor pH 7,4 za ispiranje obojenih preparata.
Nefluorescirajuće imerziono ulje.
Pipeta za uzimanje 25 µl uzorka.
Kadica za ispiranje.
Pokrovne ljuspice.
Fluorescentni mikroskop sa filter sistemom za fluorescenciju (maksimalna ekscitaciona talasna dužina 490 nm, srednja emisiona talasna dužina 530 nm) i uvećanja x600 i x1000.
Predmetna stakla za hlamidiju.

OPREZ

Fluorotect Chlamydia reagensi ne sadrže opasne supstance definisane važećim propisima EU Commission Regulations on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), ali se ipak moraju smatrati biohazardnim materijalom. Bacanje upotrebljenog materijala mora biti u skladu sa lokalnim zakonom. Ne gutati.

Fluorotect Chlamydia reagens sadrži 0,095% natrijum azida, koji je prisutan kao konzervans, a koji može biti toksičan ako se unese per os. Natrijum azid može reagovati sa olovnim i bakarnim kanalizacionim cevima, pri čemu daje visoko eksplozivne soli. Prilikom bacanja, isprati dovoljnom količinom vode.

ČUVANJE

Čuvati na temperaturi od 2-8 °C.

Reagensi unutar kompleta ponašaće se odgovarajuće do isteka roka trajanja, koji je određen u odnosu na datum proizvodnje. Datum isteka roka je poslednji dan meseca koji je označen na etiketi bočice i pakovanja.

Izbegavati izlaganje reagensa temperaturama izvan ovog opsega.

Fluorotect Chlamydia DFA reagensi su osetljivi na svetlost, pa se radi zaštite moraju čuvati u originalnim bocama izrađenim od tamnog stakla. Ne izlagati direktnoj sunčevoj svetlosti.

NE ZAMRZAVATI NIJEDNU KOMPONENTU KOMPLETA, jer može doći do ireverzibilnih promena.

Brisevi koji se koriste za uzimanje uzoraka, kao i sami uzorci smatraju se potencijalno biohazardnim materijalom. Kontrolne pločice nisu infektivne.

UZIMANJE I PRIPREMA UZORKA

Cervikalni uzorci
Uzorci iz cerviksa treba da sadrže koliko god je moguće više (kolumnarnih) epitelnih ćelija, jer C. trachomatis parazitira u ovim ćelijama.
Sterilnim brisom očistiti cerviks pre uzimanja uzorka. Uneti bris u cervikalni kanal i rotirati na skvamo-kolumnarnom spoju. Izvaditi bris bez dodirivanja površine vagine.
Uretralni uzorci
Uzorci iz uretre takođe moraju sadržati intaktne epitelijalne ćelije u cilju dobijanja tačnih rezultata.
Poželjno je da pacijenti ne uriniraju jedan sat pre uzimanja uzorka. Dakronski ili pamučni bris uneti 2-4 cm u uretru. Rotirati i izvaditi.
Priprema preparata
Prelaziti brisom preko površine pločice napred-nazad tako da se pokrije kružna test površina. Ostaviti da se uzorak osuši na vazduhu, pa fiksirati metanolom oko 5 minuta.
Ocediti i opet osušiti na vazduhu. Ako se uzorak ne ispituje odmah, čuvati na temperaturi od 2-8 °C preko noći ili na –20 °C do 2 meseca.

PRIPREMA REAGENSA

Svi reagensi pre upotrebe moraju dostići sobnu temperaturu (20 °C – 25 °C). Pre upotrebe promućkati reagense. Ne stvarati penu.

OGRANIČENJA

Uspešno dijagnostifikovanje upotrebom **Fluorotect Chlamydia** testom zavisi od uzimanja uzoraka, koji moraju imati dovoljno ćelijskog materijala koji mora biti vidljiv pod mikroskopom. Adekvatna priprema pločica je takođe veoma važna.

Proizvod je namenjen samo za jednokratnu upotrebu.

Nisko pozitivni ili sumnjivo pozitivni rezultati se moraju ponovo ispitati. Dijagnoza se ne može doneti samo na osnovu jednog kliničkog ispitivanja. Prilikom interpretacije testa preporučljivo je uzeti u obzir sve kliničke nalaze.

Preporučljivo je koristiti najmanje 25 µl **Fluorotect Chlamydia** DFA reagensa za pokrivanje test površine predmetnog stakla za hlamidiju. Upotreba manje zapremine reagensa može izazvati poteškoće, jer ne dolazi do potpunog pokrivanja polja.

POSTUPAK ISPITIVANJA

1. Preneti 25 µl **Fluorotect Chlamydia** DFA reagensa na fiksirani razmaz uzorka i pozitivnu kontrolnu pločicu.
2. Inkubirati na 37 °C 30 minuta u prisustvu vlage, na tamnom mestu. Pločice se ne smeju osušiti jer to može uticati na pojavu nespecifičnog vezivanja.
3. Pažljivo ispirati puferom u kadici oko 1 minut.
4. Odliti tečnost i apsorbujućim materijalom ukloniti višak tečnosti oko kružnog test polja.
5. Na test polje dodati jednu kap rastvora za zaštitu boje, staviti pokrovno staklo na vrh kapi i ukloniti mehuriće vazduha.
6. Fluorescentnim mikroskopom pod uveličanjem od x600 do x1000 i imerzionim uljem pregledati celokupno polje. Odmah očitati ili čuvati na 2-8 °C, na tamnom mestu do 24 h.

REZULTATI I INTERPRENTACIJA

Urogenitalni uzorci obično pokazuju ekstracelularna elementarna tela koja se pojavljuju kao svetlo zelene fuorescentne tačkice, diskovi glatkih ivica (dijametra oko 300 nm). Mogu se jasno videti u odnosu na pozadinu koju čine obojene ćelije. Retikularna tela se mogu videti, i ona su 2-3 puta veća u odnosu na prethodna. Ona jednako fluoresciraju ili imaju taman centar sa fluorescentnim oreolom. Intaktne hlamidijalne inkluzije se retko mogu videti. Bilo koji materijal koji se može razlikovati od hlamidijalnih formi ili čija je fluorescencija različita od svetlo zelene, treba zanemariti. Kontrolna pločica se koristi za upoređivanje izgleda i veličine elementarnih tela u uzorku. Pozitivna dijagnoza se može dati kada fiksirani i obojeni uzorak ima najmanje 10 hlamidijalnih tela. Ovaj broj se preporučuje radi smanjenja broja lažno pozitivnih rezultata zbog pogrešnog tumačenja nespecifične fluorescencije.
Negativan nalaz se može očekivati kada fiksirani i obojeni razmaz nema hlamidija, ali su ćelije prisutne. Ćelije mogu biti intaktne ili razorene. Mora biti prisutno najmanje 10 kolumnarnih ćelija.
Fluorescentni materijal nepravilnog oblika koji je različitog oblika u odnosu na hlamidijalna tela ili fluorescira belo, crveno ili žuto smatrati nespecifičnim. Ako kontrolne pločice ili pločice sa poznatim uzorkom ne daju očekivane rezultate, testiranje smatrati nevažećim.

PROBLEMI

Za svaki uzorak koristiti poseban nastavak za jednokratnu upotrebu, da bi se izbegla unakrsna kontaminacija.

Zatvoriti reagense odmah nakon upotrebe.

Pre početka testiranja svi reagensi moraju dostići sobnu temperaturu (20 °C– 25 °C). Nežno promešati sve reagense pažljivim okretanjem naopačke ili mućkanjem.

Testiranje može obaviti samo obučeno osoblje.

Ne koristiti oštećene ili kontaminirane komponente kompleta.

EVALUACIJA

Fluorotect Chlamydia reagens detektuje sve poznate *Chlamydia trachomatis* serovare, A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, LGV1, LGV2, LGV3.
Nije zabeležena reaktivnost sa *Chlamydia psittaci* ili *Chlamydia pneumoniae* (TWAR).
CHLAMYDIA DFA reagens je testiran u odnosu na široku listu organizama uključujući □-hemolitičke *Streptococcus* vrste, *Lactobacillus acidophyllus*, *Peptostreptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Actinomyces isrodii*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans* i *Trichomonas vaginalis* pri čemu nije zabeležena unakrsna reakcija.

Fluorotect Chlamydia DFA u odnosu na tradicionalne tehnike kultivisanja na podlogama.

Fluorotect Chlamydia	neg	poz	poz	neg	ukupno
kultura	neg	poz	poz	neg	
broj uzoraka	367	31	2	0	400
žene	317	14	1	0	332
muškarci	50	17	1	0	68

Uzorak: žene-cervikalni bris
muškarci-uretralni bris

Korelacija: 99.5% (398:400)
Osetljivost 100% (31:31)
Pozitivna pretpostavljena vrednost:93,9% (31:33)
Negativna pretpostavljena vrednost:100% (367:367)
Reproducibilnost **Fluorotect Chlamydia** kompleta je 100%.

REFERENCE

1. Chlamydial Disease, Ed. Darougar, S. Brit. Med. Bull. 39:107-203 (1983).
2. **Taylor-Robinson, D. and Thomas, B-F.** J. Clin. Path. 33:205-233 (1980).
3. **Tam, M.R., Stamm, W. E., Handsfield, M. M., Stephens, R., Kuo, C. C., Holmes, K., Ditzenberger, K., Kreiger, M. and Nowinski, R. C**. New. Eng. J. Med. 310:1146-1150 (1984).
4. **Hawkins, D. A., Wilson, R. S., Thomas, B. J., Evans, R. T**., Br. J. Opth. 69:640-644 (1985).

8111 ISSUE 5B December 2015

© Omega Diagnostics Ltd 2015. **SERBIAN**

0843

OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY