

Fabricado por: Omega Diagnostics LTD.
Importado e Distribuído por: BioSys LTDA.
CNPJ: 02220795/0001-79
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Niterói, RJ.
CEP: 24.020-062
MS - 10350840143
Responsável técnico:
Vera Lúcia Alves Janoni – CRF: 2848
SAC: + 55 (21) 3907-2534
sac@biosys.com.br
www.biosys.com.br



CHLAMYDIA DFA[®] Ref OD019

Teste de Fluorescência Direta para a detecção de *Chlamydia trachomatis*.

Armazenar de 2 – 8 °C. NÃO CONGELAR.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A *Chlamydia trachomatis* é uma bactéria intracelular obrigatória que infecta as superfícies das mucosas do trato genito-urinário, nasofaringe ou conjuntiva. As infecções por *Chlamydia* sp do trato genital são muito comuns e podem ser assintomáticas e, portanto, pode não ser suspeitada, diagnosticada ou tratada. Nos homens, ela causa uretrite não gonocócica (UNG) que pode levar a epididimite e prostatite. As infecções em mulheres podem causar complicações mais sérias como salpingites e doenças inflamatórias pélvicas que podem levar a uma gravidez ectópica. No feto, a pneumonia intersticial e a conjuntivite são adquiridas durante o parto.

USO PREVISTO

O CHLAMYDIA DFA é um teste rápido de fluorescência direta *in vitro* para a detecção de *Chlamydia trachomatis* em amostras de pacientes.

Apenas para uso profissional.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste CHLAMYDIA DFA permite a coloração direta de amostras clínicas. Todos os sorotipos de *Chlamydia trachomatis* compartilham um antígeno protéico comum localizado na membrana externa da parede celular. Os anticorpos monoclonais marcados com fluoresceína (FITC) direcionados contra esta proteína da membrana externa podem, portanto, serem usados para detectar este antígeno. O anticorpo marcado com fluoresceína se liga especificamente a *Chlamydia trachomatis* presente nos esfregaços uretrais ou cervicais fixados com metanol previamente aplicados em uma cavidade na lâmina de microscópio. Uma etapa de lavagem remove os anticorpos marcados com fluoresceína não ligados. Quando observada em um microscópio de fluorescência, a *Chlamydia trachomatis* exibe uma fluorescência verde-maçã brilhante que são os corpos elementares ou reticulares extracelulares que contrastam com o material marrom avermelhado ou contra-corado.

CONTEÚDO

Ref OD019



Reag	DFA	1,25mL
------	-----	--------

Anticorpos monoclonais purificados, marcados com fluorescência, em solução tampão estabilizada com pH 7,4, com corante Azul de Evans.

Soln	MountingFluid	2,5 mL
------	---------------	--------

Solução de Glicerol pH 7,2 contendo um inibidor de descolorimento.

Control	+	1
---------	---	---

Lâmina limpa, não corada, preparada com células de mamíferos fixadas, exibindo corpos elementares e corpos reticulares extracelulares, embrulhada em uma embalagem metálica selada contendo dessecante. Pronto para uso.

Instruções de uso

1

MATERIAIS REQUERIDOS MAS NÃO FORNECIDOS

Metanol para fixação da amostra
Tampão Fosfato Salino (PBS) pH 7.4 para lavagem da amostra corada
Óleo de imersão não-fluorescente
Micropipeta de 25µL
Recipiente de lavagem

Laminulas

Microscópio de Fluorescência com sistema de filtro para FITC (comprimento de onda de excitação máxima de 490 nm, comprimento de onda médio de emissão de 530 nm) e aumento de 600x a 1000x.

Lâminas de microscópio com poços de 6 a 8 mm de diâmetro

PRECAUÇÕES

O reagente CHLAMYDIA DFA não contém substâncias perigosas de acordo com as regulamentações atuais da UK Chemicals (Informações Perigosas e Embalagem para Fornecimento). Todos os reagentes devem, entretanto, serem tratados como potenciais riscos biológicos no uso e descarte. O descarte final deve ser de acordo com a legislação local. Não ingerir.

O reagente CHLAMYDIA DFA contém 0.095% de Azida Sódica como conservante que pode ser tóxico se ingerido. A Azida Sódica pode reagir com encanamentos de chumbo e cobre e formar sais altamente explosivos. No descarte, utilize grandes quantidades de água.

ARMAZENAGEM

Os reagentes devem ser armazenados em temperaturas entre 2°C e 8°C.

O kit apresentará o desempenho de acordo com as especificações até a data de validade indicada pelo fabricante, determinada a partir da data de fabricação do produto, e indicada no kit e componentes. A data de validade é o último dia do mês indicado nos rótulos do frasco e do kit. Não utilize reagentes após o prazo indicado na embalagem. A exposição dos reagentes à temperaturas excessivas deve ser evitada.

O reagente CHLAMYDIA DFA é sensível à luz e deve ser mantido no frasco de vidro marrom original para proteção. Não expor à luz solar direta.

NÃO CONGELE NENHUM DOS REAGENTES, pois isso poderá causar danos irreversíveis.

Os swabs e lâminas de amostras de pacientes devem ser manuseados como materiais de potencial risco biológico. A Lâmina de Controle demonstrou não ser infecciosa em cultura de tecido.

COLETA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Amostra Cervicais

Amostras do colo do útero feminino devem conter o máximo de células epiteliais colunares possíveis, pois a *Chlamydia trachomatis* é um organismo intracelular que infecta estas células.

Limpe o colo do útero com um swab de algodão estéril antes da amostragem. Introduza o swab dentro do canal cervical e gire o swab na junção escamo-colunar. Retire o swab sem tocar nas superfícies vaginais.

Amostras Uretrais

Amostras da uretra masculina devem também conter células epiteliais intactas para assegurar um diagnóstico correto.

É preferível que os pacientes não urinem uma hora antes da coleta do swab. Introduzir um swab de 2 a 4 cm dentro da uretra usando um swab com ponta de lã de algodão ou poliéster (dacron). Gire o swab e retire.

Preparação das Lâminas

Role o swab para trás e para frente na lâmina de vidro para cobrir a área do poço. Deixe a amostra secar ao ar livre e então fixe em Metanol por 5 minutos.

Escorra e deixe secar ao ar livre. Se a amostra não for testada imediatamente, armazene-a de 2 – 8 °C durante toda a noite ou congele-a à -20°C por até 2 meses.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Todos os reagentes devem estar em temperatura ambiente (20°C a 25°C) e deve ser misturados suavemente antes do uso. Evite a formação de espuma.

LIMITAÇÕES DO TESTE

O diagnóstico correto usando o CHLAMYDIA DFA depende da coleta da amostra clínica contendo material celular suficiente que seja visível ao microscópio. A preparação correta da lâmina também é importante.

Não existe protocolo de reutilização deste produto.

Um resultado baixo ou suspeito de ser positivo deve ser reavaliado

O diagnóstico não deve ser feito somente com base em um único teste clínico. Ao realizar a interpretação do teste é altamente recomendado levar em consideração todos os dados clínicos.

Recomenda-se não usar menos que 25 µL de reagente de Clamídia DFA para cobrir o poço na lâmina. Um volume menor pode dificultar na cobertura do esfregaço.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Dispense 25 µL do reagente Clamídia DFA no esfregaço de amostra fixado e na Lâmina de Controle Positivo, cobrindo toda a área do poço.
2. Incube as lâminas à 37°C em uma câmara úmida por 30 minutos no escuro. Não deixe as lâminas secarem, pois isso pode causar ligações não-específicas.
3. Lave suavemente em um banho de Tampão Fosfato Salino (PBS) por aproximadamente 1 minuto.
4. Escorra a lâmina e remova o excesso de umidade em volta dos poços com papel absorvente.
5. Adicione uma gota de Fluido de Montagem no poço e coloque uma lamínula em cima da gota e remova as bolhas de ar.
6. Observe a amostra inteira usando um microscópio de fluorescência em óleo de imersão com aumento de 600x a 1000x. Leia imediatamente ou armazene à 2 – 8 °C no escuro por até 24 horas.

RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO

As amostras urogenitais usualmente exibem Corpos Elementares extracelulares que aparecem como pontos fixos fluorescentes verde-maçã brilhantes com corpos em forma de disco de plano pontiagudo (aproximadamente 300 nm de diâmetro). Eles podem ser vistos contra um fundo de células contra-coradas. Os Corpos Reticulares podem também ser observados e são de 2 a 3 vezes maiores que os Corpos Elementares. Eles podem ser inteiramente fluorescentes ou possuir centros escuros com halos de fluorescência. Inclusões de Clamídia intracelulares intactas são raramente observadas. Qualquer material que possa ser distinguido das formas de Clamídia ou que tenha fluorescência diferente de verde-maçã deve ser desconsiderado. A Lâmina de Controle deve ser usada para comparação com a aparência e o tamanho dos Corpos Elementares encontrados na amostra. Um diagnóstico positivo pode ser esperado quando as amostras coradas fixadas mostrarem no mínimo 10 corpos de Clamídia. Este nível é necessário para reduzir resultados falso-positivos decorrentes de interpretações errôneas de fluorescências não-específicas.

Um diagnóstico negativo pode ser esperado quando o esfregaço corado fixado não apresentar organismos de Clamídia, embora as células estejam presentes. Essas células podem ser intactas ou células colunares rompidas. Pelo menos 10 células colunares devem estar presentes.

O material fluorescente de forma irregular que é diferente no tamanho em relação aos corpos de Clamídia descritos acima ou que tenha fluorescência branca, vermelha ou amarela deve ser considerado como coloração não-específica. Se a lâmina de controle ou amostras de pacientes conhecidas não derem os resultados esperados, os resultados dos testes devem ser considerados inválidos.

RECOMENDAÇÕES

Utilize uma ponteira descartável separada para cada amostra para prevenir contaminação cruzada.

Recoloque as tampas em todos os reagentes imediatamente após o uso.

Antes de iniciar o teste, todos os reagentes devem estar em temperatura ambiente (20°C a 25°C). Homogenize suavemente todos os reagentes por inversão ou rotação.

O kit deve ser manuseado apenas por pessoal qualificado.

Não use componentes do kit danificados ou contaminados.

AVALIAÇÃO

O Reagente CLAMÍDIA DFA detecta todos os sorotipos de *Chlamydia trachomatis*, A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, LGV1, LGV2 e LGV3. Ele não reage com cepas de *Chlamydia psittaci* ou *Chlamydia pneumoniae* (TWAR).

O Reagente CLAMYDIA DFA foi testado para uma extensiva lista de organismos em cultura incluindo *Streptococcus* β-hemolítico, *Lactobacillus acidophilus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Actinomyces isrodl*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans* e *Trichomonas vaginalis* e nenhuma reação cruzada foi observada.

Comparação do desempenho do CHLAMYDIA DFA com a técnica de cultura tradicional.

CHLAMYDIA DFA	Neg	Pos	Pos	Neg	TOTAIS
Cultura	Neg	Pos	Neg	Pos	
Número de Amostras	367	31	2	0	400
Feminino	317	14	1	0	332
Masculino	50	17	1	0	68

Origem das amostras:

Femininas ⇒ cervical

Masculinas ⇒ uretral

% de Correlação: 99.5% (398/400)

% de Sensibilidade: 100% (31/31)

Valor Preditivo Positivo: 93.9% (31/33)

Valor Preditivo Negativo: 100% (367/367)

A reprodutibilidade do kit de CHLAMYDIA DFA é de 100%.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde bem como outras práticas de biossegurança equivalentes, revisão em vigor.

REFERÊNCIAS

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 5/A 2010/ BS Rev00 ago2012



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Escócia, Reino Unido
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.co.uk
EMPRESA CERTIFICADA ISO 9001:2000