

1. Uso previsto

El test NADAL® Chlamydia (hisopo/orina) es un inmunoensayo visual rápido para la detección cualitativa de la presunta presencia de *Chlamydia trachomatis* en hisopos cervicales de mujeres, así como en hisopos uretrales y muestras de orina de hombres. Este test está diseñado para ayudar en el diagnóstico de infección por Chlamydia y está destinado únicamente al uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

Los géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila* incluyen, además de otras, tres especies: *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), recientemente reclasificada como *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*), asociada principalmente a humanos, así como la *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*), asociada principalmente a animales.

La *C. trachomatis* comprende 15 serotipos conocidos y se asocia con el tracoma y las infecciones genitourinarias. De los 15 serotipos, 3 se asocian al linfogranuloma venéreo (LGV). Las infecciones por *C. trachomatis* son las enfermedades bacterianas de transmisión sexual más comunes. La *C. trachomatis* se caracteriza por su alta prevalencia y frecuencia asintomática de portadores, con frecuentes complicaciones graves en mujeres y neonatos. Las complicaciones de una infección por *Chlamydia* en mujeres incluyen cervicitis, uretritis, endometritis, enfermedades inflamatorias pélvicas (EIP) y alta incidencia de embarazos ectópicos e infertilidad. La transmisión vertical de la enfermedad entre madre e hijo durante el parto puede causar conjuntivitis y neumonía. En varones, por lo menos el 40% de los casos de uretritis no gonocócica, están asociados a la infección de *Chlamydia* y epididimitis. Alrededor del 70% de las mujeres con infecciones endocervicales y del 50% de los hombres con infecciones uretrales son sintomáticos.

La infección por *C. psittaci* está asociada con enfermedades respiratorias en individuos expuestos a pájaros infectados y no se transmite de persona a persona.

La *C. pneumoniae*, aislada por primera vez en 1983, se asocia con infecciones respiratorias y neumonía.

La infección temprana por *Chlamydia* ha sido diagnosticada por la detección de inclusiones de *Chlamydia* en células de cultivo de tejidos. El método de cultivo es el método de laboratorio más sensible y específico, pero resulta intensivo, caro y largo (2-3 días), y no se encuentra generalmente disponible en la mayor parte de las instituciones. Los test directos, como los ensayos de inmunofluorescencia (IFA), requieren un equipamiento especializado y un operador capacitado para leer el resultado. Actualmente, la *Chlamydia* se detecta principalmente mediante PCR.

3. Principio del test

El test NADAL® Chlamydia (hisopos/orina) detecta *Chlamydia trachomatis* mediante la interpretación visual del desarrollo del color en la tira de test interna. Los anticuerpos anti-antígeno específico lipopolisacáridos (LSP) se encuentran inmovilizados en la línea de test de la membrana. Durante el ensayo, la muestra reacciona con otros anticuerpos anti-chlamydia LPS que están conjugados con partículas coloreadas y recubren la almohadilla de conjugados del test. La mezcla migra entonces a través de la membrana por acción capilar e

interactúa con los reactivos. Si hay suficientes antígenos de *Chlamydia* en la muestra, se formará una línea coloreada en la región de la línea de test de la membrana. La presencia de esta línea coloreada indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

La aparición de una línea coloreada en la región de control sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente y que la membrana ha reaccionado correctamente.

4. Reactivos y materiales provistos

Cada test está formado por una tira reactiva en una carcasa de plástico.

La cantidad de anticuerpos de *C. trachomatis* que recubren la línea de test es inferior a 0,001 mg, la cantidad de estreptavidina que recubre la membrana en la línea de control es de aproximadamente 0,0003 mg. La almohadilla de conjugado contiene 0,002 mg de anticuerpos de *C. trachomatis* acoplados a partículas rojas de látex.

- 20 casetes de test NADAL® Chlamydia
- Material provisto de acuerdo a 93/42/EEC:
20 hisopos estériles para las muestras cervicales de mujeres CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street
Guilford, Maine 04443-0149 USA (representante
UE autorizado EMERGO EUROPE, La Haya,
Holanda)

- 20 tubos de extracción con cuentagotas
- 1 búfer de extracción A "extraction buffer A" (10 ml) que contiene 0,2M NaOH



Peligro
H315 Causa irritación de la piel
H319 Causa irritación grave de los ojos

- 1 búfer de extracción B "extraction buffer B" (9 ml) que contiene 0,2M HCl
- 1 portatubos
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Para muestras de orina de pacientes varones: recipientes para recolectar la muestra, pipetas desechables, centrifugadora.
- Para muestras uretrales de varones: hisopos especiales
- Para muestras cervicales de pacientes mujeres: hisopos adicionales o bolas de algodón para retirar el exceso de mucosidad
- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacene el dispositivo de test a 2-30°C hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. Mantenga el casete en su envase sellado hasta su uso. No congele el kit. Proteja los componentes del test de su contaminación. No utilice el test si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo dispensado, recipientes o reactivos puede conducir a resultados falsos.

7. Advertencias y precauciones

- Sólo apto para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.

- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice los test o hisopos si el envase está dañado.
- Para evitar la contaminación cruzada de las muestras, no reutilice los test ni los tubos de extracción.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits de test, p. ej. cuentagotas o tapones de diferentes frascos de búfer de extracción.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Use ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- Las soluciones búfer de extracción A y B son ligeramente cáusticas. Evite el contacto con los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto accidental, lavar bien con agua.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados del test.
- Una vez completado el procedimiento, deseche con cuidado los hisopos después de esterilizarlos en el autoclave a 121°C durante al menos 20 minutos. Alternativamente, se pueden tratar los hisopos con hipoclorito de sodio al 0,5% (p. ej. lejía doméstica) durante una hora antes de su eliminación.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.
- No utilice cepillos de citología con pacientes embarazadas.

8. Recolección de muestras y preparación

La calidad de las muestras obtenidas es de extrema importancia. La detección de la *Chlamydia* requiere una técnica de recolección enérgica y exhaustiva que proporcione material celular, y no sólo fluidos corporales. **No** utilice cloruro de sodio al 0,9% para tratar los hisopos antes de recolectar las muestras.

Para recolectar muestras de hisopos cervicales de mujeres:

- Utilice sólo el búfer suministrado con el kit de test.
- Antes de recolectar la muestra, retire el exceso de mucosidad del área endocervical con un hisopo separado o una bola de algodón, y deséchelo.
- El hisopo se debe insertar en el canal endocervical, pasando la unión escamoso-cilíndrica, hasta que apenas se pueda ver

la punta. Esto permitirá la adquisición de células epiteliales columnares o cuboidales, que son la mayor reserva de la bacteria de *Chlamydia*.

- Rote firmemente el hisopo durante 15-20 segundos y a continuación retírelo. Evite la contaminación con células exocervicales o vaginales.
- Si se va a analizar el hisopo inmediatamente, insértelo en el tubo de extracción.

Para recolectar muestras de hisopos uretrales de pacientes varones:

- Se recomienda utilizar hisopos estándar con punta de fibra y eje de alambre, o cepillos de citología (no suministrados) para la recolección de las muestras uretrales. Informe a los pacientes de que no deben orinar desde al menos una hora antes de la recogida de la muestra.
- Inserte el hisopo en la uretra hasta unos 2-4 cm, rótelo durante 3-5 segundos y después retírelo.
- Si se va a analizar el hisopo inmediatamente, insértelo en el tubo de extracción.

Para recolectar muestras de orina de pacientes varones:

- Recolecte 15-30 ml de la primera orina limpia de la mañana en un recipiente estéril para muestras de orina. Se recomienda recolectar la primera orina de la mañana para obtener la mayor concentración de antígenos de *Chlamydia*.
- Mezcle la muestra invirtiendo el recipiente. Transfiera 10 ml de muestra de orina a un tubo de centrifugado, añada 10 ml de agua destilada y centrifugue la suspensión a 3.000 rpm durante 15 minutos.
- Mantenga el tubo invertido y elimine con cuidado el sobrenadante. Retire el sobrenadante del borde del tubo frotando con papel absorbente.
- Si se va a realizar el test inmediatamente, trate el sedimento de orina según lo indicado en el apartado 9 "Procedimiento del test".

No sitúe los hisopos en ningún dispositivo de transporte que contenga medio de transporte, ya que interfiere con el ensayo. No se requiere viabilidad de la bacteria para la prueba. Si no es posible realizar la prueba inmediatamente, se deben colocar las muestras del paciente en un tubo seco de transporte para su almacenamiento o transporte. Los hisopos se pueden almacenar a temperatura ambiente (15-30°C) durante 4 horas o refrigerados (2-8°C) durante 24 horas. Las muestras de orina se pueden mantener refrigeradas (2-8°C) hasta 24 horas. No las congele. Lleve todas las muestras a temperatura ambiente (15-30°C) antes de la realización de la prueba.

9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, los reactivos y/o los controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

- Retire el casete de test de su envase y utilícelo lo más pronto posible. Para obtener mejores resultados, realice la prueba inmediatamente después de abrir el envase.
- Extraiga los antígenos de *Chlamydia* atendiendo al tipo de muestra.

Para las muestras de hisopos cervicales o uretrales:

1. Coloque un tubo de extracción en el portatubos. Sujete el frasco con el búfer de

extracción A en vertical, añada 8 gotas al tubo de extracción.

2. Inserte el hisopo del paciente en el tubo de extracción y espere 2 minutos. Mientras tanto, rote el hisopo con movimientos circulares, y presiónelo contra los lados del tubo de extracción, para soltar el líquido del hisopo y poderlo reabsorber. Repita este proceso 15 veces.

3. Sujete el frasco con el búfer de extracción B en vertical, y añada 8 gotas. Mezcle los líquidos con el hisopo. Presione el hisopo con firmeza contra las paredes del tubo de extracción durante 1 minuto para que el hisopo suelte tanto líquido como sea posible. Elimine el hisopo siguiendo las directrices para el tratamiento de agentes infecciosos. Coloque el cuentagotas en el tubo de extracción.

4. La muestra extraída se puede mantener a temperatura ambiente durante 60 minutos sin afectar al resultado.

5. Añada 3 gotas (aprox. 100 µL) de la muestra extraída del tubo de extracción al pocillo para la muestra (S) del casete de test. Active el cronómetro.

Evite la formación de burbujas en el pocillo para la muestra (S) y no añada ninguna solución al área de reacción (área de resultados).

Cuando el test comience a trabajar, el color se desplazará a través de la membrana.

6. Espere a que aparezca la(s) línea(s) coloreada(s). Lea el resultado a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.

Para muestras de orina de pacientes varones:

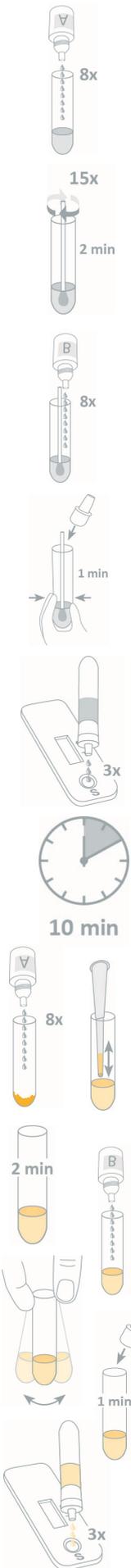
1. Sujetando el frasco con el búfer de extracción A en vertical, añada 8 gotas al sedimento de orina en el tubo de centrifugación. A continuación, desplace el líquido arriba y abajo con una pipeta para mezclarlo enérgicamente hasta que la suspensión sea homogénea.

2. Transfiera toda la solución del tubo de centrifugación a un tubo de extracción. Déjelo en reposo durante 2 minutos.

3. Sujetando el frasco con el búfer de extracción B en vertical, añada 8 gotas al tubo de extracción. Agítelo con un vórtex o golpee el fondo del tubo para mezclar la solución. Déjelo reposar durante 1 minuto.

4. Coloque el cuentagotas en el tubo de extracción. Añada 3 gotas (aprox. 100 µL) de la muestra extraída del tubo de extracción al pocillo para la muestra (S) del casete de test. Active el cronómetro.

Evite la formación de burbujas en el pocillo para la muestra (S) y no añada ninguna



solución al área de reacción (área de resultados).

Cuando el test comienza a trabajar, el color se desplazará a través de la membrana.

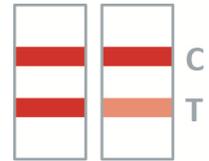
5. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) coloreada(s). Lea el resultado a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.



10. Interpretación del resultado

Positivo:

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana. Una en el área de control (C) y la otra en el área de test (T).



Negativo:

Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en el área de test (T).



No válido:

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de utilizar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.



Nota:

La intensidad de la línea en el área de test (T) puede variar en función de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de la línea de prueba se debe considerar positiva. Recuerde que este test sólo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito en la muestra.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

Se trata de la línea coloreada que aparece en la región de control (C), actuando como control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

Las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Chlamydia (hisopo/orina) sólo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro* y únicamente debe utilizarse para la detección cualitativa de *C. trachomatis*. La intensidad del color o la anchura de las líneas formadas no tienen relevancia.

- El test no diferencia entre *C. trachomatis*, *C. pneumonia* o *C. psittaci*. Sin embargo, no se debería utilizar para la detección de otro tipo de *Chlamydia* que la *C. trachomatis*, ya que sólo se ha probado dicho material de muestra con material del paciente. Por lo general, de las tres especies de *Chlamydia*, sólo la *C. trachomatis* está presente en el tracto urogenital. Por esta razón, si se utiliza el material de muestra indicado, no se espera que se produzcan reacciones cruzadas con otras especies de *Chlamydia* que puedan influir en la detección de *C. trachomatis*. Un resultado positivo indica con alta probabilidad una infección por *C. trachomatis*.
- La detección de *Chlamydia* depende de la cantidad de la bacteria presente en la muestra. Esto puede verse afectado por los métodos de recolección de la muestra o por las características del paciente, como la edad, historial de ETS, presencia de síntomas, etc. El nivel mínimo de detección de este test puede variar según el serotipo. Si la carga bacteriana en la muestra es muy baja, no se pueden descartar resultados negativos falsos.
- Si las muestras contienen gran cantidad de mucosidad o sangre, se pueden producir resultados positivos falsos.
- Al igual que con otros test, el diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de un único test, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.

Sensibilidad relativa: 92,6% (87,1%-97,4%)*
 Especificidad relativa: 95,2% (90,3%-97,9%)*
 Concordancia general: 94,2% (89,5%-97,8%)*
 *95% intervalo de confianza

Límite de detección

Se ha demostrado que los anticuerpos utilizados en el test NADAL® Chlamydia (hisopos/orina) detectan los quince serotipos conocidos de *Chlamydia trachomatis*. El nivel mínimo de detección de este test puede variar en función del serotipo de 1,0 x 10⁵ CE/test a 2,5 x 10⁵ CE /test (CE = cuerpo elemental).

Reacciones cruzadas

Los patógenos *C. psittaci* y *C. pneumoniae* muestran una reacción cruzada con el test a causa de la estructura LPS conservada entre todas las especies de *Chlamydia*. No se han determinado los límites de detección para *C. psittaci* y *C. pneumoniae*.

Se estudiaron las reacciones cruzadas con otros organismos utilizando suspensiones de 1,0 x 10⁷ organismos/test. Los siguientes organismos mostraron resultados negativos cuando se probaron con el test NADAL® Chlamydia (hisopos/orina):

Organismos	ATCC No.
<i>Staphylococcus aureus</i>	12598
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433
Grupo Streptococcus	8132
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238
<i>Hemophilus influenzae</i>	9795
<i>Candida albicans</i>	1108
<i>Neisseria meningitides</i>	13077
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424
Grupo Streptococcus B	12401
<i>Proteus vulagris</i>	33420
<i>Enterococcus faecium</i>	19000
<i>Proteus mirabilis</i>	35659
<i>Acinetobacter spp</i>	33305
<i>Salmonella choleraesius</i>	51812
<i>Gardnerella vaginalis</i>	49145
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	51432

13. Características del rendimiento

Comparación del test NADAL® Chlamydia con el PCR (muestras de hisopos cervicales de mujeres)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	-	Total
PCR	+	46	5	51
	-	4	95	99
	Total	50	100	150

Sensibilidad relativa: 90,2% (76,9%-96,5%)*
 Especificidad relativa: 96,0% (91,2%-99,4%)*
 Concordancia general: 94,0% (89,4%-97,6%)*
 *95% intervalo de confianza

Comparación del test NADAL® Chlamydia con el PCR (muestras de hisopos uretrales de varones)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	-	Total
PCR	+	42	12	54
	-	9	105	114
	Total	51	117	168

Sensibilidad relativa: 77,8% (66,7%-88,2%)*
 Especificidad relativa: 92,1% (86,4%-96,9%)*
 Concordancia general: 93,0% (82,1%-92,3%)*
 *95% intervalo de confianza

Comparación del test NADAL® Chlamydia con el PCR (muestras de orina de varones)

		Test NADAL® Chlamydia		
		+	-	Total
PCR	+	25	2	27
	-	2	40	42
	Total	27	42	69

Interferencia

Un estudio de interferencia mostró que las concentraciones altas de sangre fresca (40 µl/test) o mucina (0,4 mg/test) pueden producir en algunos casos resultados positivos débiles falsos.

Se añadieron las siguientes sustancias a la orina a 10 mg/ml y se procesaron según las instrucciones de uso. No mostraron interferencia con la formación de resultados positivos y negativos con 1 x 10⁵ CE/test:

N-ácido acetilsalicílico	Acetaminofeno
Ácido ascórbico	Ampicilina
Aspartamo	Ácido benzoico
Cafeína	Codeína
Cortisona	Cotina
Creatinina	EDTA

Ácido gentísico	Hidrocortisona
Ácido oxálico	Prednisona
Procaína	Quinina
Tiamina	D, L triptófano
Urea	Ácido úrico

Variabilidad interlote e intralote

No se observaron variabilidades interlote o intralote significantes. Las muestras negativas mostraron resultados negativos para todas las determinaciones (10 veces) con tres lotes independientes. Las muestras positivas con $2,5 \times 10^5$ ó $1,0 \times 10^6$ CE/test mostraron resultados positivos.

14. Referencias

1. Schachter J, Chlamydial Infections. West J Med 1990 Nov, 153:523-534
2. Mouton J.W. et al., Detection of Chlamydia trachomatis in Male and Female Urine Specimens by Using the Amplified Chlamydia trachomatis Test. J Clin Microbiol 1997 June, 35: 1369-1372
3. Barnes RC, Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Microbiol Rev 1989 Apr , 2: 119-136
4. ECDC (Uropean Centre for Disease Prevention and Control) Chlamydia Control in Europe. 2009 June, ISBN 978-92-9193-165-1

Rev. 1, 2016-12-15 MP