

FOR EXPORT ONLY. Not for sale in the USA.

alethia[®]

Chlamydia

DNA Amplification Assay

DNA Amplification Assay for the Detection of *Chlamydia trachomatis*

REF 480450

IVD

INTENDED USE

The Alethia Chlamydia (CT) assay, performed on the Alethia Incubator/Reader, is an in vitro diagnostic device for the detection of *Chlamydia trachomatis* in physician-collected (or other trained medical professional) endocervical swabs, patient-collected vaginal swab specimens from clinical settings, male urine specimens and female urine specimens.

The Alethia CT assay utilizes loop-mediated isothermal DNA amplification (LAMP) technology to detect *Chlamydia trachomatis* by targeting a segment of the *Chlamydia trachomatis* genome. Results from the Alethia CT assay can be used as an aid in the diagnosis of chlamydial urogenital infection in asymptomatic and symptomatic individuals. This assay is not intended to monitor treatment for chlamydial infections.

The Alethia CT assay is intended for use in hospital, reference or state laboratory settings. The device is not intended for point-of-care use.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The Alethia Chlamydia molecular assay is based on loop-mediated amplification (LAMP) technology.¹ The assay targets a 240 base pair (bp) sequence of *Chlamydia trachomatis* cryptic plasmid. The target DNA sequence is found in a region of the plasmid which codes for an unnamed protein product and is found in all 33 strains of *C. trachomatis* in which the cryptic plasmid sequence is reported.

Loop-mediated amplification uses specially designed primers to provide for specific and continuous isothermal DNA amplification. A by-product of amplification is the formation of magnesium pyrophosphate, which forms a white precipitate leading to a turbid reaction solution. Reaction solution absorbance characteristics are monitored by the Meridian Alethia Incubator/Reader. Changes in reaction solution absorbance characteristics created by precipitation of magnesium pyrophosphate indicate the presence of target DNA. The absence of target DNA results in no significant change in sample absorbance.

The Alethia Chlamydia kit includes Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control, Alethia Chlamydia Test Devices and Mineral Oil. The Alethia Assay Control, used for specimen dilution and preparation, is a buffered solution containing formalin-treated *Escherichia coli* cells harboring *Staphylococcus aureus* DNA. The Alethia Chlamydia Test Device contains one lyophilized amplification reagent bead in each of two chambers: a TEST chamber with Chlamydia-specific primers and a CONTROL chamber with *S. aureus*-specific primers. The *S. aureus* DNA from the Control Reagent and the *S. aureus*-specific primers in the CONTROL chamber function as the Internal Control for the assay. During specimen preparation, each patient specimen is diluted with the Control Reagent containing the control *S. aureus* target. Addition of *S. aureus* DNA to the patient specimen allows for parallel processing of target DNA and Control DNA through sample preparation, amplification and detection. The Internal Control monitors DNA extraction, amplification inhibition, assay reagent performance and sample processing effectiveness. The control *S. aureus* target must be amplified and detected in the final reaction or the test is considered invalid and patient results are not reported.

The Alethia Incubator/Reader monitors changes in absorbance characteristics by measuring transmission of light through the Test and Control reaction solutions. Light transmission is checked at the assay Run Start (Signal_{initial}, S_i) and at the assay Run End (Signal_{final}, S_f). The Alethia reader calculates the change in light transmission between Run End and Run Start (S_f:S_i) and compares the ratio to a fixed cut-off value.

Fixed cut-off values for the TEST chamber are used to report sample results. TEST chamber S_f:S_i ratios less than 82% are reported as 'POSITIVE'; TEST chamber S_f:S_i ratios greater than or equal to 82% are reported as 'NEGATIVE'. Numerical values are not reported.

Fixed cut-off values for the CONTROL chamber are used to determine validity. CONTROL chamber S_f:S_i ratios less than 90% are considered valid and allow for reporting of TEST chamber results (POSITIVE, NEGATIVE). CONTROL chamber S_f:S_i ratios greater than or equal to 90% are considered invalid and prevent reporting of TEST chamber results. Invalid CONTROL chamber reactions are reported as 'INVALID'. Numerical values are not reported.

More stringent cut-off criteria are applied to the CONTROL chamber reaction to ensure amplification is not inhibited, reagents are performing as intended and that sample processing was performed appropriately.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

Chlamydia trachomatis is one of the most common bacterial sexually transmitted infections worldwide. The World Health Organization estimates that 92 million cases of *C. trachomatis* infection occur annually.² Chlamydia remains the most commonly reported infectious sexually transmitted disease in the United States, with more than 1.3 million cases reported in 2010.³

Chlamydiae are nonmotile, gram-negative, obligate intracellular bacteria. The *C. trachomatis* species is comprised of fifteen serovars (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 and L3), categorized into 3 groups, each associated with a different disease state. Serovars A-C are responsible for ocular disease; Serovars D through K are the major cause of genital chlamydial infections in men and women. Serovars L1, L2, and L3 are responsible for lymphogranuloma venereum. *C. trachomatis* infection causes cervicitis, urethritis, salpingitis, proctitis, and endometritis in women, and urethritis, epididymitis and proctitis in men. Asymptomatic infection is common in both males and females. Left untreated, chlamydia can cause serious health problems in women such as Pelvic Inflammatory Disease (PID), ectopic pregnancy, and infertility.⁴ The organism can be transmitted in the birth canal; children born to infected mothers are at significantly higher risk for neonatal ophthalmia and pneumonia.⁴ The United States Centers for Disease Control and Prevention recommend annual chlamydia screening for all sexually active women ≤ 25 years due to the risks associated with chlamydial infection.⁴

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

1. **Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control (Assay Control):** Phosphate-buffered solution containing a blue dye and formalin-treated *E. coli* cells harboring plasmid containing a segment of the *S. aureus* genome with sodium azide (0.09%) as a preservative. Packaged in bottle with dropper tip.
2. **Alethia Chlamydia Test Device:** Two-chambered device packaged in a foil pouch containing lyophilized amplification reagents (DNA polymerase, deoxynucleotide triphosphates) and either Chlamydia-specific primers (TEST Chamber) or control primers (CONTROL Chamber).
3. **Mineral Oil**
4. **Transfer Pipettes**

MATERIALS PROVIDED SEPARATELY

M-prep™ DNA Sample Preparation Kit, Meridian Bioscience, Inc. Catalog Number: 281110

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Disposable latex gloves, powder free
2. DNase/RNase-free, aerosol resistant pipette tips
3. Sterile, plastic, preservative-free, urine specimen collection cups
4. MSwab™ Collection, Preservation and Transport System for Molecular and Culture Applications, Copan Flock Technologies Srl, Catalog Number 6E028N.MER
5. NATtrol™ *Chlamydia trachomatis* External Run Controls (Strain D-UW-3), Zeptomatrix, Catalog Number NATCT(D-UW3)-ERCL
6. Molecular Biology Grade Tris-EDTA (TE) Buffer
7. Nuclease-free Microcentrifuge Tubes, 2 mL

EQUIPMENT NOT PROVIDED

1. Microcentrifuge capable of 2000 ± 250 rcf (2000 ± 250 x g)
2. Alethia Incubator/Reader, Meridian Bioscience, Inc. Catalog Number: 610189
3. Micropipette(s) capable of dispensing 50 µL and 250 µL
4. Interval Timer

PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Do not interchange Assay Control Reagent or Test Devices between lots. Mineral Oil is interchangeable provided it is within assigned expiration dates when used.
3. Follow Biosafety Level 2 and Good Laboratory practices during testing.⁵ Treat all specimens and used Test Devices as capable of transmitting infectious agents. Do not eat, drink or smoke in areas where specimens or kit reagents are handled.
4. Wear disposable gloves while handling specimens and thoroughly wash hands afterwards.
5. Quality Control Programs for Molecular Testing Laboratories should be employed.⁵
6. The Alethia Chlamydia Test Device contains lyophilized reagents. The protective pouch should not be opened until ready to perform the assay.
7. The Alethia Chlamydia Test Device includes a latch feature that is designed to prevent contamination of the test area with amplification product. Do NOT use Test Devices with broken latches.
8. Dispose of used Alethia Test Devices immediately after processing, leaving the device latch securely in place. Do NOT open the Test Device after processing. Opening the device after amplification may result in contamination of the test area with amplification product.

HAZARD AND PRECAUTIONARY STATEMENTS

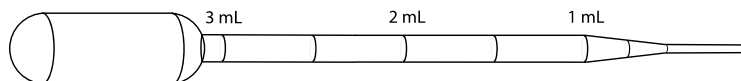
There are no known hazards associated with this product.

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2-30 C.

PROCEDURAL NOTES

The transfer pipette included in the Alethia Chlamydia kit is individually wrapped and capable of dispensing up to 3 mL. The pipette is diagrammed below.



REAGENT PREPARATION

Ensure kit reagents are at room temperature (19-30 C) before use. Incorrect results may be obtained if reagents are not brought to room temperature prior to use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Sample types: Physician-collected endocervical swabs, patient-collected vaginal swabs (from clinical settings), male urine and female urine

Endocervical and Vaginal Swab Specimen Collection

Endocervical and vaginal swab specimens should be collected by trained medical professionals, in accordance with institutional guidelines.

Vaginal swab specimens may be self-collected by the patient when instruction and supervision is provided by a trained medical professional. Institutional guidelines should be followed.

Urine Specimen Collection

Urine specimens must be collected in a sterile, plastic, preservative-free, specimen collection cup. The following steps should be taken to ensure specimen quality:

1. Do not let patient urinate for at least 1 hour prior to specimen collection.
2. Have patient collect the first 10-30 mL of voided urine (the first part of the stream, not midstream) directly into the collection cup.
3. Cap and label the collection cup with patient and sample collection information.

Collected swab and urine specimens should be stored refrigerated (2-8 C) after collection. Refrigerated specimens may be held for up to 7 days prior to testing. Do not freeze specimens.

SPECIMEN PREPARATION

NOTE: Turn on the Alethia Incubator/Reader. Ensure that the required performance verifications have been completed before initiation of SPECIMEN PREPARATION. Refer to the Alethia reader Operator's Manual for further information regarding instrument set-up and operation.

Refer to the *M*-prep DNA Sample Preparation Kit package insert for information regarding column preparation, orientation and use. Use 1 *M*-prep column per sample. Remove the column top cap, followed by the bottom twist-off tip, and place the column tip into an *M*-prep tube to drain. Drained *M*-prep columns should be used within 1 hour.

Ensure specimens are at room temperature (19-30 C) before specimen preparation.

Swab Specimen Preparation

1. Swirl or invert the collected swab in medium to mix. Open the medium container carefully.

2. Using a transfer pipette, transfer 1.5 mL of the swab medium into a 2.0 mL screw-top Microcentrifuge *M*-prep tube. Discard the transfer pipette.
3. Briefly vortex the Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control. Add 1 drop of the Assay Control to the *M*-prep tube containing the sample medium. **The prepared sample will have a light blue appearance after addition of the Assay Control reagent.**
4. Cap the *M*-prep tube containing the sample.

Urine Specimen Preparation

1. Swirl the urine collection cup to mix. Open the urine container carefully.
2. Using a transfer pipette, transfer 1.5 mL of urine into a 2.0 mL screw-top microcentrifuge *M*-prep tube. Discard the transfer pipette.
3. Briefly vortex the Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control. Add 1 drop of the Assay Control to the *M*-prep tube containing the sample medium. **The prepared sample will have a light blue appearance after addition of the Assay Control reagent.**
4. Cap the *M*-prep tube containing the sample.

External Positive Control Preparation

1. Vortex NATrol™ *Chlamydia trachomatis* External Run Control.
2. Transfer 1.5 mL TE Buffer to a 2.0 mL nuclease-free microcentrifuge tube.
3. Using a micropipette, add 250 µL External Run Control to the tube containing TE Buffer.
4. Briefly vortex the Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control. Add 1 drop of the Assay Control to the *M*-prep tube containing the sample medium.
5. Cap the microcentrifuge tube containing External Control.

External Negative Control Preparation

1. Transfer 1.75 mL TE Buffer to a 2.0 mL nuclease-free microcentrifuge tube.
2. Briefly vortex the Alethia Chlamydia/Gonorrhea Assay Control. Add 1 drop of the Assay Control to the *M*-prep tube containing the sample medium.
3. Cap the microcentrifuge tube containing External Control.

Sample Processing

NOTE: The amount of prepared sample collected at the end of the Sample Processing steps should be enough to complete 2 Alethia tests.

1. Centrifuge each *M*-prep tube containing sample for 3 minutes at 2000 ± 250 rcf (2000 ± 250 x g).
2. Remove the *M*-prep tube from the microcentrifuge. Manually decant the supernatant fluid without disturbing any pellet formed during centrifugation.
3. Using a micropipette, add 250 µL of *M*-prep Buffer I to the *M*-prep tube. Discard the pipette tip. Vortex 10 seconds to mix.
4. Using a micropipette set to 250 µL, transfer the entire prepared sample to the top of an appropriately labeled and prepared *M*-prep Column. Wait approximately 2 minutes, or until the sample has been absorbed by column and flow stops. This step should take no longer than 30 minutes.
5. Using a micropipette, add 250 µL of *M*-prep Buffer II to the top of the *M*-prep column. Discard the pipette tip. **The column will have a red appearance after the addition of *M*-prep Buffer II.** Wait approximately 2 minutes, or until the red-colored buffer is absorbed by the column and flow stops. This step should take no longer than 30 minutes.
6. Remove the last drop of liquid from the column tip with the *M*-prep Tube. Discard the tube.
7. Place a clean *M*-prep Tube under the *M*-prep Column. Using a micropipette, add 250 µL of *M*-prep Buffer III to the top of the *M*-prep Column. Discard the pipette tip. Wait approximately 2 minutes or until flow stops. This step should take no longer than 30 minutes.
8. Remove the last drop of liquid from the column tip with the *M*-prep Tube. Label the tube with sample identification information and proceed to Test Procedure.

TEST PROCEDURE

NOTE: A maximum of 10 test devices can be processed in a single Alethia reader run.

1. Remove 1 Alethia Chlamydia Test Device from its protective pouch per sample. Carefully open the device by lifting the latch, holding the device upright so that the lyophilized reagents do not fall out upon opening. Place the device on a flat surface or in a rack that can accommodate the device.
2. Transfer 50 µL of sample to the TEST chamber (Left/White Bead) and CONTROL chamber (Right/Yellow Bead) of the Alethia Test Device. Take care not to introduce air to the reaction mixture. Do not mix reactions with pipette.
3. Add 1 drop of Mineral Oil to both the TEST chamber and CONTROL chamber. Close the Alethia Test Device and fasten the latch securely.
4. Tap device on the bench top or mix to remove air bubbles. Carefully examine the Test Device for rehydration of the Control/Test Bead, for air bubbles left in the chamber and liquid in the top of the device. If undissolved beads, air bubbles or liquid in the top of the device are noted, tap the device on the bench top and repeat visual inspection. Amplification and detection should be initiated within 15 minutes.
5. Insert the Alethia Test Device into the Alethia reader and initiate run. Results will be displayed at the conclusion of the run.

INTERPRETATION OF RESULTS

Sample ID	Reported Result	Interpretation
Patient Specimen	POSITIVE	Sample contains <i>Chlamydia trachomatis</i> target DNA.
	NEGATIVE	No <i>Chlamydia trachomatis</i> DNA detected.
	INVALID	No reportable result. Repeat the test using the original patient specimen. Inhibitory patient specimen, improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
Positive Control	POSITIVE	Valid positive control result. Reagents active at time of use, Alethia reader performing correctly.
	NEGATIVE	Incorrect control result. Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
	INVALID	No reportable result. Repeat entire assay run using original samples. Improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
Negative Control	POSITIVE	Incorrect control result. Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
	NEGATIVE	Valid negative control result. Reagents active at time of use, Alethia reader performing correctly.
	INVALID	No reportable result. Repeat entire assay run using original samples. Improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
EMPTY WELL	NONE	No Alethia Test Device in the Alethia reader Well. OR The Alethia Test Device present is compromised due to sample preparation failure, dirty device or improperly seated device. Repeat the test using original sample.

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

- 1. Each device contains an internal control that controls for amplification inhibition, assay reagents and sample processing effectiveness.
- 2. Good laboratory practice recommends the use of control materials. Users should follow the appropriate federal, state and local guidelines concerning the running of external quality controls.
- 3. It is recommended that the reactivity of each new lot and each new shipment of Alethia Chlamydia be verified on receipt and before use. External control tests should be performed thereafter in accordance with appropriate federal, state and local guidelines. The Alethia Chlamydia test kit should not be used in patient testing if the external controls do not produce the correct results.
- 4. A separate Test Device must be used for each external control reagent.

EXPECTED VALUES

The incidence of *Chlamydia trachomatis* as detected by the Alethia Chlamydia Assay in prospectively collected, non-selected specimens during the period of clinical studies was 2.8% (3/107) with endocervical swabs, 3.9% (4/102) with vaginal swabs, and 16.1% (73/454) in urine.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- 1. This product can only be used with the Alethia instrument.
- 2. The Alethia Chlamydia assay is a qualitative assay and does not provide quantitative values or information about organism load.
- 3. Performance of the Alethia Chlamydia assay with endocervical and vaginal swabs has been established using the Copan MSwab™ Collection, Preservation and Transport System for Molecular and Culture Applications, Catalog 6E028N.MER. The use of alternate swab collection systems may lead to improper results and is not recommended.
- 4. The detection of nucleic acids is dependent upon proper specimen collection, handling, transportation, storage and preparation. Failure to observe proper procedure in any one of these steps can lead to incorrect results.
- 5. Organism nucleic acid may persist *in vivo*, independent of organism viability. The Alethia Chlamydia assay does not distinguish between viable and nonviable organisms.
- 6. As with all molecular based diagnostic tests, (A) False negative results may occur from the presence of inhibitors, technical error, sample mix-up or low numbers of organisms in the clinical specimen; (B) False positive results may occur from the presence of cross-contamination by target organisms, their nucleic acids or amplified product, and from non-specific signals.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The Alethia Chlamydia DNA Amplification Assay was evaluated between July and September 2014. Clinical sample collection was carried out by three independent facilities representing geographically distinct regions within the United States. Physician-collected endocervical swabs, patient-collected vaginal swabs, female urine, and male urine specimens were collected prospectively from symptomatic and asymptomatic patients. The study was supplemented with left-over clinical urine specimens taken from patients for whom chlamydia and/or gonorrhea testing was ordered by a physician. Clinical specimens were tested with Alethia Chlamydia by the manufacturer.

The performance of Alethia Chlamydia was compared to an established, commercially available PCR assay for the detection of *Chlamydia trachomatis* and with a comparator method by an independent Reference Laboratory. Clinical study information is described below.

Table 1 Performance Characteristics - *C. trachomatis*

Comparator	Alethia Chlamydia All Samples Combined, All Patients Female Endocervical Swabs, Female Vaginal Swabs, Female Urine, Male Urine			
	Positive	Negative	Invalid	No Flow
Positive	67	2	4	0
Negative	12	550	12	6
Not Tested	1	9	0	0
Total	80	561	16	6
95% CI				
Sensitivity	67/69	97.1%	90.0 – 99.2%	
Specificity	550/562	97.9%	96.3 – 98.8%	
Correlation	617/631	97.8%	96.3 – 98.7%	
Invalid Rate	16/663	2.4%	1.5 – 3.9%	

Sixteen specimens produced invalid results, five swabs and 11 urines. Six specimens did not flow through the *M-Prep* column and did not produce Alethia results.

Samples used in the study were taken from patients for whom chlamydia and/or gonorrhea testing was ordered by a physician. One hundred seventeen (25.0%) patients were considered asymptomatic and 55 (11.8%) were considered symptomatic. The remaining 295 patients were not classified.

Age information was known for 466 of the patients from whom samples were tested. Patient age ranged from 14 years to 66 years. Patients less than 14 years or age were excluded from the study. Two hundred ninety nine (64.0%) patients were between 14 and up to 21 years of age; 166 (35.5%) were between 21 and up to 65 years old; and 1 (0.2%) was above 65 but below 90 years. Age for 1 (0.2%) patient was unknown. There were no noted performance differences based on age.

The study population included 277 (59.3%) female and 190 (40.7%) male patients. There is no expectation that the Alethia Chlamydia assay performance characteristics are influenced by patient gender.

ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity or Limit of Detect for the Alethia Chlamydia assay was determined for one *C. trachomatis* strain, representing serovar D. Limit of Detection was determined using 60 replicates and a stated probability (eg. 95%, where 57/60 replicates are positive) of obtaining positive responses. Analytical sensitivity testing is summarized below.

Serovar	Strain	IFU/mL
D	D-UW3r	2.5

ASSAY REACTIVITY

The following *C. trachomatis* strains were tested and produced a positive reaction with Alethia Chlamydia at the indicated concentrations:

Serovar	Strain ID	Concentration (IFU/mL)
A	Har 13	2.5
B	Har 36	0.625
Ba	Apache 2	0.625
C	Har 32	0.625
E	Bour	10.0
F	IC-Cal3	0.625
G	UW 57	0.625
H	580	0.625
I	UW12	0.625
J	UW36	1.25
K	UW31	0.625

REPRODUCIBILITY

Reproducibility studies were carried out by three laboratories. Blind-coded panels of 10 samples were supplied to participating laboratories. Samples were randomly sorted within each panel to mask sample identities. The panels included contrived samples manufactured as moderate positive samples (15 IFU/mL), low positive samples (5 IFU/mL); and high negative samples (0.078 IFU/mL). The panel also included one negative sample, positive control and negative control. Testing was performed by different operators at each site on the same day (intra-assay variability) for five days (inter-assay variability). Three lots of Alethia Chlamydia and nine Alethia readers were used in this study. Positive and Negative Controls were tested each day of testing. The results are provided in the table below:

Sample Type	Site 1		Site 2		Site 3		Total	
	Percent Agreement		Percent Agreement		Percent Agreement		Percent Agreement	
Moderate Positive	29/30	96.7%	29/30	96.7%	28/30	93.3%	86/90	95.6%
Low Positive	30/30	100.0%	29/30	96.7%	26/30	86.7%	85/90	94.4%
High Negative	30/30	100.0%	30/30	100.0%	29/30	96.7%	89/90	98.9%
Negative	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%
Negative Control	10/10	100.0%	10/11	90.9%	10/10	100.0%	30/31	96.8%
Positive Control	10/10	100.0%	10/11	90.9%	10/10	100.0%	30/31	96.8%

CROSSREACTIVITY

Crossreactivity studies were performed with positive and negative urine specimens inoculated with microorganisms to a final concentration of 1.2×10^6 CFU/mL. None of the following organisms reacted with Alethia Chlamydia: *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, and *Neisseria subflava*.

TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES

The following chemical substances, at the specified saturated solvent/diluent concentrations, do not interfere with test results: Acetylsalicylic Acid (4 mg/mL), Acetaminophen (3.2 mg/mL), and Feminine Body Powder (2.5% w/v).

The following biological substances, at the specified saturated solvent/diluent concentrations, do not interfere with test results: Acidic Urine [pH 4, (100% v/v)], Alkaline Urine [pH 9, (100% v/v)], Beta Estradiol (0.07 mg/mL), Human DNA (3.333 ng/mL), Leukocytes (1.04×10^6 cells/mL), Mucin [bovine submaxillary gland type I-S (0.2% w/v)], Progesterone (7 mg/mL), Seminal Fluid (5.0% v/v), Whole Blood (0.3% v/v).

alethia®

Chlamydia

DNA Amplification Assay

Test di amplificazione del DNA per il rilevamento di *Chlamydia trachomatis*

REF 480450

IVD

FINALITÀ D'USO

Il test Alethia Chlamydia (CT), eseguito sull'Incubatore/Lettore Alethia, è un dispositivo diagnostico in vitro per il rilevamento di *Chlamydia trachomatis* in tamponi endocervicali raccolti dal medico (o da un altro professionista sanitario specializzato), in campioni prelevati con tampone vaginale raccolti dalla paziente in ambienti clinici, in campioni di urina maschile e di urina femminile.

Il test Alethia CT utilizza la tecnologia LAMP (amplificazione isoterma del DNA loop-mediata) per rilevare *Chlamydia trachomatis* attraverso l'identificazione di un segmento del genoma di *Chlamydia trachomatis*. I risultati del test Alethia CT possono essere usati come ausilio nella diagnosi dell'infezione urogenitale da clamidia in soggetti sintomatici ed asintomatici. Questo test non è da utilizzarsi per il monitoraggio dei pazienti sottoposti al trattamento delle infezioni da clamidia.

Il test Alethia CT è destinato all'uso nei laboratori ospedalieri, statali o di riferimento. Il dispositivo non è destinato all'uso presso i punti di assistenza (point of care).

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il test molecolare Alethia Chlamydia è basato sulla tecnologia LAMP (amplificazione loop mediata).¹ Il test amplifica una sequenza di 240 paia di basi (bp) del plasmide critico di *Chlamydia trachomatis*. La sequenza bersaglio del DNA è presente in una regione del plasmide che codifica un prodotto proteico putativo e si trova in tutti i 33 ceppi di *C. trachomatis* in cui si presenta la sequenza del plasmide critico.

L'amplificazione loop mediata utilizza primers appositamente designati per ottenere la specifica e continua amplificazione isoterma del DNA. Un sotto-prodotto del processo di amplificazione del DNA è la formazione di magnesio pirofosfato, che forma un precipitato bianco che rende torbida la soluzione di reazione. Le caratteristiche di assorbanza della soluzione di reazione vengono lette dall' incubatore/lettore Meridian, Alethia. Il cambiamento nelle caratteristiche di assorbanza della soluzione di reazione, determinato dalla precipitazione del magnesio pirofosfato, indica quindi la presenza del target specifico. L'assenza del DNA target fa sì che non vi sia un cambiamento significativo nell'assorbanza del campione.

Il kit Alethia Chlamydia include il Reagente di Controllo per il test Alethia Chlamydia/Gonorrhea, i dispositivi Test Alethia Chlamydia ed Olio Minerale. Il Reagente di Controllo Alethia, utilizzato per la diluizione e la preparazione del campione, è una soluzione tampone contenente cellule di *E. coli* trattate con formalina che ospitano il DNA di *Staphylococcus aureus*. Il Dispositivo Test Alethia Chlamydia contiene, in ognuna delle due camere, una microstera di reagente di amplificazione liofilizzato: la camera del TEST contiene i primer specifici per la clamidia, la camera del CONTROLLO contiene i primer specifici per *S. aureus*. Il DNA di *S. aureus* del Reagente di Controllo e i primer specifici per *S. aureus* nella camera del CONTROLLO funzionano come controllo interno della procedura. Durante la preparazione del campione, ciascun campione del paziente viene diluito con il reagente di controllo contenente il DNA target di *S. aureus*. L'aggiunta del DNA di *S. aureus* al campione biologico del paziente consente di effettuare un trattamento parallelo del DNA target e del DNA di controllo attraverso la preparazione del campione, l'amplificazione e il rilevamento. Il controllo interno serve a monitorare l'efficienza dell'estrazione del DNA, l'eventuale inibizione dell'amplificazione, le prestazioni dei reagenti e l'efficacia del processamento del campione. La sequenza target di *S. aureus* deve essere amplificata e rilevata nella reazione finale, altrimenti il test viene considerato invalido e i risultati del paziente non vengono referati.

L'incubatore/lettore Alethia monitora le variazioni nelle caratteristiche di assorbanza misurando la trasmissione della luce attraverso le soluzioni di reazione contenute nelle provette Test e Controllo. La trasmissione della luce viene misurata all'inizio (Signal_{initial}, S_i) nonché alla fine della procedura di amplificazione (Signal_{final}, S_f). Il lettore Alethia calcola la variazione nella trasmissione della luce fra la fine e l'inizio dell'analisi (S_f:S_i) e confronta il rapporto con un valore stabilito di cut-off.

I valori di cut-off stabiliti per la provetta TEST sono utilizzati per riportare i risultati del campione. I rapporti S_f:S_i della provetta TEST inferiori all'82% sono riportati come "POSITIVI"; i rapporti S_f:S_i della provetta TEST superiori o pari all'82% sono riportati come "NEGATIVI". I valori numerici ottenuti non sono riportati.

I valori di cut-off stabiliti per la provetta CONTROLLO sono utilizzati per determinare la validità del test. I rapporti S_f:S_i della provetta CONTROLLO inferiori al 90% sono considerati validi e consentono la refertazione dei risultati ottenuti nella provetta TEST (POSITIVI, NEGATIVI). I rapporti S_f:S_i della provetta CONTROLLO superiori o pari al 90% sono considerati non validi e impediscono la refertazione dei risultati della provetta TEST. Le reazioni della provetta CONTROLLO non valide sono riportate come "NON VALIDO". I valori numerici non sono riportati.

Alla lettura della reazione della provetta CONTROLLO vengono applicati criteri di cut-off più stringenti al fine di garantire che l'amplificazione del campione non sia stata inibita, che i reagenti reagiscano come previsto e che il processamento del campione sia stato effettuato correttamente.

PRINCIPI BIOLOGICI

L'infezione causata da *Chlamydia trachomatis* è una tra le infezioni batteriche sessualmente trasmesse più comuni al mondo.. L'Organizzazione Mondiale della Sanità stima che ogni anno si verificano 92 milioni di casi di infezione di *C. trachomatis*.² La Clamidosi resta la malattia infettiva sessualmente trasmessa più comunemente segnalata negli Stati Uniti, con oltre 1,3 milioni di casi nel 2010.³

Le Chlamydiae appartengono ad un genere di batteri gram-negativi intracellulari obbligati non mobili. La specie *C. trachomatis* include quindici sierotipi (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3), suddivisi in 3 gruppi, ciascuno associato ad un diverso stato della malattia. I sierotipi A-C sono responsabili della malattia oculare, quelli dal D alla K sono la causa principale delle infezioni genitali da clamidia negli uomini e nelle donne. I sierotipi L1, L2 e L3 sono responsabili del linfogranuloma venereo. L'infezione da *C. trachomatis* causa cervicite, uretrite, salpingite, proctite ed endometrite nelle donne e uretrite, epididimite e proctite negli uomini. L'infezione asintomatica è comune sia negli uomini che nelle donne. Se non trattata, la clamidia può causare gravi problemi di salute nelle donne, come la malattia infiammatoria pelvica (PID), gravidanza ectopica ed infertilità.⁴ L'organismo può essere trasmesso nel canale del parto, i bambini nati da madri infette corrono un rischio notevolmente superiore di sviluppare oftalmia neonatale e polmonite.⁴ Il Centro per il Controllo e la Prevenzione delle Malattie degli Stati Uniti (CDC) raccomanda uno screening annuale per la clamidia per tutte le donne sessualmente attive di età ≤ 25 anni a causa dei rischi associati alle infezioni da clamidia.⁴

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

1. **Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea (Controllo Interno):** soluzione tampone fosfato contenente cellule di *E. coli* trattate con formalina e colorante blu che ospitano all'interno un plasmide contenente un segmento del genoma di *S. aureus*; con sodio azide (0,09%) come conservante. Confezionato in flacone con puntale contagocce.
2. **Dispositivo Test Alethia Chlamydia:** dispositivo a due camere confezionato in busta di alluminio contenente i reagenti di amplificazione liofilizzati (DNA polimerasi, deossinucleotidi trifosfati) e i primer specifici per la clamidia (camera del TEST) o i primer di controllo (camera del CONTROLLO).
3. **Olio minerale**
4. **Pipette di trasferimento**

MATERIALI FORNITI SEPARATAMENTE

M-prep™ - Kit Meridian Bioscience per la preparazione del campione di DNA. Numero di catalogo: 281110

MATERIALI NON FORNITI

1. Guanti in lattice monouso, senza talco
2. Puntali con filtro resistenti all'aerosol, DNase/RNase-free, per pipetta di precisione
3. Contenitori sterili in plastica sterili per la raccolta di urine, senza conservanti
4. MSwab™: Sistema di raccolta, conservazione e trasporto del campione per applicazioni molecolari e colturali, Copan Flock Technologies Srl, Numero di Catalogo 6E028N.MER
5. Controlli ESTERNI Zeptomatrix: NATtrol™ *Chlamydia trachomatis* (ceppo D-UW-3), Numero di catalogo NATCT(D-UW3)-ERCL
6. Tampone Tris-EDTA (TE) per biologia molecolare
7. Provette per microcentrifuga da 2 mL, nucleasi-free

STRUMENTI NON FORNITI

1. Microcentrifuga, velocità 2000 ± 250 rcf (2000 ± 250 x g)
2. Alethia incubatore/lettore, Meridian Bioscience, Inc. Numero di catalogo: 610189
3. Micropipette di precisione in grado di dispensare 50 µL e 250 µL
4. Timer

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. Non scambiare tra lotti il Reagenti di Controllo Alethia o i Dispositivi Test. L'olio minerale è intercambiabile tra lotti sempre che si utilizzi entro la data di scadenza indicata.
3. Durante i test applicare le precauzioni di Bio Sicurezza di Livello 2 e le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP).⁵ Manipolare come potenzialmente infetti tutti i campioni e i Dispositivi Test usati. Non mangiare, bere o fumare in aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti del kit.
4. Indossare guanti monouso per la manipolazione dei campioni e lavarsi a fondo le mani al termine dell'analisi.
5. Si suggerisce di adottare programmi di controllo della qualità esterni (VEQ) per Laboratori di Biologia Molecolare.
6. Il Dispositivo Test Alethia Chlamydia contiene reagenti liofilizzati. La busta protettiva non deve essere aperta fino a quando non si è pronti ad eseguire il test.
7. Il Dispositivo Test Alethia Chlamydia comprende un sistema di chiusura ideato per prevenire la contaminazione dell'area di lavoro con il prodotto di amplificazione. NON utilizzare Dispositivi Test con linguette di chiusura rotte.
8. Smaltire i Dispositivi Test Alethia subito dopo l'uso, lasciando chiusa la linguetta del dispositivo. NON aprire il Dispositivo Test dopo l'uso. L'apertura del Dispositivo Test dopo l'amplificazione potrebbe causare la contaminazione dell'area di lavoro con il prodotto di amplificazione.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

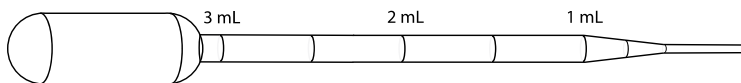
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La data di scadenza è riportata sull'etichetta del kit. Conservare il kit a 2-30 C.

NOTE PROCEDURALI

Le pipette di trasferimento incluse nel kit Alethia Chlamydia sono confezionate singolarmente e sono in grado di dispensare fino a 3 mL. La pipetta è illustrata nel disegno sottostante.



PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Assicurarsi che i reagenti del kit siano a temperatura ambiente (19-30 C) prima dell'uso. Se i reagenti non hanno raggiunto la temperatura ambiente prima dell'uso, si possono ottenere risultati non corretti.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Tipi di Campioni: Tamponi endocervicali raccolti dal medico, Tamponi vaginali raccolti dalle pazienti (in ambienti clinici), urina maschile e femminile.

Raccolta dei Campioni con Tampone Vaginale ed Endocervicale. I campioni ottenuti da tampone vaginale ed endocervicale dovrebbero essere raccolti da operatori sanitari formati, ai sensi delle linee guida istituzionali.

I campioni ottenuti da tampone vaginale possono essere raccolti dalla paziente dietro istruzione e supervisione di un operatore sanitario formato. Devono essere seguite le linee guida istituzionali.

Raccolta di Campioni di Urina

I campioni di urina devono essere raccolti in un apposito contenitore sterile, in plastica, senza conservanti. Per garantire la qualità del campione, devono essere rispettate le seguenti procedure:

1. Il paziente deve avere la vescica piena da almeno 1 ora prima della raccolta del campione.
2. Chiedere al paziente di raccogliere nel contenitore i primi 10-30 mL di urina (il primo flusso, non quello intermedio).
3. Chiudere il contenitore ed apporvi l'etichetta con le informazioni del paziente e della raccolta.

Dopo la raccolta i campioni di urina e i tamponi devono essere conservati in frigorifero (2-8 C). I campioni refrigerati possono essere conservati per un massimo di 7 giorni prima di eseguire il test. Non congelare i campioni.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

NOTA: accendere l'incubatore/lettore Alethia. Prima di iniziare la PREPARAZIONE DEL CAMPIONE, assicurarsi che siano state completate le verifiche prestazionali richieste dallo strumento. Consultare il Manuale dell'Operatore del lettore Alethia lettore per ulteriori informazioni sulla configurazione e sul funzionamento dello strumento.

Consultare le istruzioni per l'uso nel kit *M-prep* per la preparazione del campione di DNA per informazioni su preparazione, orientamento e uso delle colonne. Usare 1 colonna *M-prep* per ogni campione. Rimuovere il cappuccio superiore della colonna e solo successivamente rimuovere la punta inferiore ruotandola ed inserire poi la colonna *M-prep* in una provetta di raccolta *M-prep*. Le colonne *M-prep* drenate devono essere usate entro 1 ora dall'apertura.

Assicurarsi che i campioni siano a temperatura ambiente (19-30 C) prima della preparazione.

Preparazione del campione ottenuto da tampone

1. Per miscelare il campione ruotare il tampone nel terreno o capovolgere il contenitore. Aprire il contenitore del terreno con attenzione
2. Usando una pipetta di trasferimento, trasferire 1,5 mL del terreno di trasporto del tampone in una provetta *M-prep* da 2,0 mL per microcentrifuga con tappo a vite. Gettare la pipetta di trasferimento.
3. Agitare brevemente con vortex il Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Aggiungere 1 goccia del Reagente di Controllo alla provetta *M-prep* contenente il campione. ***Dopo aver aggiunto il Reagente di Controllo, il campione preparato acquisirà una colorazione azzurra.***
4. Chiudere la provetta *M-prep* contenente il campione.

Preparazione del campione di urine

1. Ruotare il contenitore di raccolta delle urine per miscelare. Aprire il contenitore di urine con attenzione.
2. Usando una pipetta di trasferimento, trasferire 1,5 mL di urine in una provetta *M-prep* da 2,0 mL per microcentrifuga con tappo a vite. Gettare la pipetta di trasferimento.
3. Agitare brevemente con vortex il Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Aggiungere 1 goccia Reagente di Controllo alla provetta *M-prep* contenente il campione. ***Dopo aver aggiunto il Reagente di Controllo, il campione preparato acquisirà una colorazione azzurra.***
4. Chiudere la provetta *M-prep* contenente il campione.

Preparazione del controllo positivo esterno

1. Agitare con vortex la provetta di Controllo Esterno NATrol™ Chlamydia trachomatis.
2. Trasferire 1,5 mL di Tampone TE in una provetta per microcentrifuga nucleasi-free da 2,0 mL.
3. Usando una micropipetta, aggiungere 250 µL di Controllo Esterno alla provetta contenente il tampone TE.
4. Agitare brevemente con vortex il Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Aggiungere 1 goccia del Reagente di Controllo alla provetta *M-prep* contenente il Campione di Controllo Positivo Esterno.
5. Chiudere la provetta per microcentrifuga contenente il Campione di Controllo Esterno.

Preparazione del controllo negativo esterno

1. Trasferire 1,75 mL di Tampone TE in una provetta per microcentrifuga nucleasi-free da 2,0 mL.
2. Agitare brevemente con vortex il Reagente di Controllo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Aggiungere 1 goccia del Reagente di Controllo alla provetta *M-prep* contenente il Tampone TE.
3. Chiudere la provetta per microcentrifuga contenente il Campione di Controllo Esterno.

Processamento del Campione

NOTA: la quantità di campione ottenuto al termine della procedura di Processamento del Campione deve essere sufficiente a completare 2 test Alethia.

1. Centrifugare ciascuna provetta *M-prep* contenente il Campione per 3 minuti a 2000 ± 250 rcf (2000 ± 250 x g).
1. Rimuovere la provetta *M-prep* dalla microcentrifuga. Decantare manualmente il fluido sovrannatante senza staccare il pellet formatosi durante la centrifugazione.
3. Usando una micropipetta, aggiungere 250 µL del Tampone I *M-prep* alla provetta *M-prep*. Gettare il puntale della pipetta. Agitare con vortex per 10 secondi.
4. Usando una micropipetta impostata su 250 µL, trasferire tutto il campione preparato nella parte superiore di una colonna *M-prep* adeguatamente allestita ed etichettata. Attendere circa 2 minuti o finché il campione è stato assorbito dalla colonna ed il flusso si è esaurito. Questo passaggio non deve durare più di 30 minuti.
5. Usando una micropipetta, aggiungere alla parte superiore della colonna *M-prep* 250 µL di Tampone II *M-prep*. Gettare il puntale della pipetta. ***Dopo l'aggiunta del Tampone II M-prep, la colonna acquisirà un colore rosso.*** Attendere circa 2 minuti o finché il Tampone II di colore rosso è stato assorbito dalla colonna ed il flusso si è esaurito. Questo passaggio non deve durare più di 30 minuti.
6. Togliere l'ultima goccia di liquido dalla punta inferiore della colonna usando la provetta *M-prep*. Gettare la provetta.
7. Inserire una provetta *M-prep* pulita sotto la colonna *M-prep*. Usando una micropipetta, aggiungere 250 µL di Tampone III *M-prep* alla parte superiore della colonna *M-prep*. Gettare il puntale della pipetta. Attendere circa 2 minuti o finché il campione è stato assorbito dalla colonna ed il flusso si è esaurito. Questo passaggio non deve durare più di 30 minuti.
8. Togliere l'ultima goccia di liquido dalla punta inferiore della colonna usando la provetta *M-prep*. Etichettare la provetta con le informazioni identificative del campione e proseguire con la Procedura del Test.

PROCEDURA DEL TEST

NOTA: Nell'incubatore/lettore Alethia è possibile processare un massimo di 10 dispositivi test per singola seduta.

1. Rimuovere 1 Dispositivo Test Alethia Chlamydia dalla corrispondente busta protettiva. Aprire con attenzione il dispositivo sollevando il fermo, tenendolo diritto in maniera tale che i reagenti liofilizzati non fuoriescano al momento dell'apertura. Collocare il dispositivo su una superficie piana o su un rack in grado di contenere il dispositivo.
2. Trasferire 50 µL di campione nella camera del TEST (Sinistra/microsfera bianca) e 50 µL nella camera del CONTROLLO (Destra/microsfera gialla) del Dispositivo Test Alethia. Prestare attenzione a non introdurre bolle d'aria nella miscela di reazione. Non miscelare la soluzione di reazione con la pipetta.
3. Aggiungere 1 goccia di olio minerale alla camera del TEST e alla camera del CONTROLLO. Chiudere il dispositivo del test Alethia e chiudere saldamente la linguetta di chiusura.
4. Picchiettare il dispositivo sul bancone o agitarlo per rimuovere le bolle d'aria. Esaminare attentamente il dispositivo del test per verificare la dissoluzione della microsfera di controllo/test e per escludere la presenza di bolle d'aria residue nella provetta e di liquido nella parte superiore del dispositivo. Se si nota la presenza di microsfera non disciolte, bolle d'aria o liquido nella parte superiore del dispositivo, picchiettare il dispositivo sul bancone e ripetere l'ispezione visiva. L'amplificazione e il rilevamento devono iniziare entro 15 minuti.
5. Inserire il Dispositivo Test Alethia nel lettore Alethia ed iniziare la corsa. I risultati saranno visualizzati alla termine della corsa.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

ID campione	Risultato riportato	Interpretazione
Campione del paziente	POSITIVO	Il campione contiene il DNA target di <i>Chlamydia trachomatis</i> .
	NEGATIVO	Nessun DNA di <i>Chlamydia trachomatis</i> rilevato.
	NON VALIDO	Nessun risultato refertabile. Ripetere il test utilizzando il campione originale del paziente. Campione del paziente con effetto inibitorio, preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
Controllo positivo	POSITIVO	Risultato del controllo positivo valido. Reagenti reattivi al momento dell'uso, lettore Alethia correttamente funzionante.
	NEGATIVO	Risultato del controllo non corretto. Ripetere i test di controllo come prima opzione per identificare la causa del fallimento. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale (in Italia +390331433636).
	NON VALIDO	Nessun risultato refertabile. Ripetere l'intero ciclo di analisi usando i campioni originali. Preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
Controllo negativo	POSITIVO	Risultato del controllo non corretto. Ripetere i test di controllo come prima opzione per identificare la causa del fallimento. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale (in Italia +390331433636).
	NEGATIVO	Risultato del controllo negativo valido. Reagenti reattivi al momento dell'uso, lettore Alethia correttamente funzionante.
	NON VALIDO	Nessun risultato refertabile. Ripetere l'intero ciclo di analisi usando i campioni originali. Preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
POZZETTO VUOTO	NESSUNO	Nessun dispositivo di analisi Alethia nel pozzetto dell'lettore Alethia. OPPURE Il dispositivo di analisi Alethia presente è compromesso a causa di un errore nella preparazione del campione, dispositivo sporco o dispositivo non propriamente alloggiato. Ripetere il test utilizzando il campione originale.

CONTROLLO QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

- Ogni dispositivo contiene un controllo interno che controlla l'inibizione dell'amplificazione, i reagenti di analisi e l'efficacia del trattamento del campione.
- La buona pratica di laboratorio raccomanda l'uso di materiali di controllo. Gli operatori devono attenersi alle appropriate linee guida federali, statali e locali riguardanti l'utilizzo dei controlli di qualità esterni.
- Si raccomanda di verificare la reattività di ciascun nuovo lotto e di ogni nuova spedizione di Alethia Chlamydia al momento della ricezione e prima dell'uso. I test di controllo esterni possono essere eseguiti successivamente, in conformità con le appropriate linee guida regionali, statali e locali. Il kit del test Alethia Chlamydia non va utilizzato per l'analisi dei pazienti se i controlli esterni non producono i risultati corretti
- Occorre utilizzare un Dispositivo Test separato per ciascun reagente di controllo esterno.

VALORI ATTESI

L'incidenza di *Chlamydia trachomatis* rilevata dal test Alethia Chlamydia in campioni non selezionati, raccolti in modo prospettico durante il periodo degli studi clinici è risultata pari al 2,8% (3/107) con tamponi endocervicali, al 3,9% (4/102) con tamponi vaginali e al 16,1% (73/454) nelle urine.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Questo prodotto può essere usato solo con lo strumento Alethia.
- Il test Alethia Chlamydia è un test qualitativo e non fornisce valori quantitativi o informazioni relative alla carica batterica dell'organismo.
- La prestazione del test Alethia Chlamydia con tamponi endocervicali e vaginali è stata determinata utilizzando il sistema Copan MSwab™ per la Raccolta, Conservazione e Trasporto del campione per applicazioni molecolari e colturali, N. Cat. 6E028N.MER. L'uso di altri sistemi di raccolta dei tamponi può causare risultati errati e non è raccomandato.
- Il rilevamento degli acidi nucleici dipende dall'adeguatezza delle procedure di prelievo, manipolazione, trasporto, conservazione e preparazione dei campioni. Il mancato rispetto della procedura appropriata per ciascuna di queste fasi può portare a risultati errati.
- Gli acidi nucleici degli organismi possono persistere *in vivo* indipendentemente dalla vitalità degli organismi stessi. Il test Alethia Chlamydia non distingue tra organismi vitali e non vitali.
- Come per tutti i test diagnostici molecolari, (A) i risultati Falsi negativi possono verificarsi in presenza di inibitori, errori tecnici, scambio di campioni o basso numero di organismi nel campione clinico, (B) i risultati Falsi positivi possono verificarsi in presenza di contaminazione crociata da parte degli organismi bersaglio, dei rispettivi acidi nucleici o del prodotto di amplificazione nonché da segnali aspecifici.

PRESTAZIONI SPECIFICHE

La sensibilità del DNA Alethia Chlamydia è stato valutato tra luglio e settembre 2014. La raccolta dei campioni clinici è stata eseguita da tre strutture indipendenti rappresentanti regioni geografiche distinte all'interno degli Stati Uniti. I tamponi endocervicali raccolti dal medico, i tamponi vaginali raccolti dalla paziente e i campioni maschili e femminili di urina sono stati raccolti in modo prospettico da pazienti sintomatici e asintomatici. Lo studio è stato integrato con campioni clinici di urina ottenuti da pazienti per i quali il medico aveva ordinato un test per la clamidia/gonorrea. I campioni clinici sono stati analizzati con Alethia Chlamydia dal produttore.

Le prestazioni di Alethia Chlamydia sono state confrontate con un test PCR consolidato disponibile in commercio per il rilevamento di *Chlamydia trachomatis* e con un metodo di confronto da un laboratorio di riferimento indipendente. Di seguito sono riportate le informazioni sullo studio clinico:

Tabella 1 Caratteristiche prestazionali - C. trachomatis

Test di Confronto	Alethia Chlamydia Tutti i campioni combinati, tutti i pazienti. Tamponi endocervicali femminili, tamponi vaginali femminili, urina femminile, urina maschile			
	Positivo	Negativo	Non Valido	Mancato flusso
Positivo	67	2	4	0
Negativo	12	550	12	6
Non testato	1	9	0	0
Totale	80	561	16	6
95% CI				
Sensibilità	67/69	97,1%	90,0 – 99,2%	
Specificità	550/562	97,9%	96,3 – 98,8%	
Correlazione	617/631	97,8%	96,3 – 98,7%	
Tasso non valido	16/663	2,4%	1,5 – 3,9%	

Sedici campioni hanno prodotto risultati non validi (cinque tamponi e 11 urine). Sei campioni non sono fluiti attraverso la colonna **M-Prep** e non hanno prodotto risultati Alethia.

I campioni utilizzati nello studio sono stati ottenuti da pazienti per i quali il medico aveva ordinato un test per la clamidia e/o gonorrea. Centodiciassette (25,0%) pazienti sono stati considerati asintomatici e 55 (11,8%) sono stati considerati sintomatici. I rimanenti 295 pazienti non sono stati classificati.

Le informazioni relative all'età erano note per 466 pazienti i cui campioni sono stati sottoposti ad analisi. L'età dei pazienti andava da 14 anni a 66 anni. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti di età inferiore a 14 anni. Duecentonovantanove (64,0%) pazienti avevano tra i 14 e i 21 anni di età; 166 (35,5%) avevano tra i 21 e i 65 anni; e 1 (0,2%) aveva più di 65 ma meno di 90 anni. L'età di 1 (0,2%) paziente era sconosciuta. Non sono state notate differenze nelle prestazioni in base all'età.

La popolazione dello studio includeva 277 (59,3%) pazienti di sesso femminile e 190 (40,7%) pazienti di sesso maschile. Non si prevedono differenze nelle prestazioni del test Alethia Chlamydia in base al sesso del paziente.

SENSIBILITÀ ANALITICA

La sensibilità analitica o il Limite di Rilevabilità per il test Alethia Chlamydia sono stati determinati per un ceppo di *C. trachomatis*, a rappresentazione del sierotipo D. Il limite di Rilevabilità è stato determinato usando 60 repliche e una probabilità dichiarata (per es.: 95% dove 57/60 repliche sono positive) di ottenere risposte positive. L'analisi della sensibilità analitica è sintetizzata qui di seguito.

Sierotipo	Ceppo	IFU/mL
D	D-UW3r	2,5

REATTIVITÀ DEL TEST

Sono stati analizzati i seguenti ceppi di *C. trachomatis* che hanno prodotto una reazione positiva con Alethia Chlamydia alle concentrazioni indicate:

Sierotipo	Ceppo ID	Concentrazione (IFU/mL)
A	Har 13	2,5
B	Har 36	0,625
Ba	Apache 2	0,625
C	Har 32	0,625
E	Bour	10,0
F	IC-Cal3	0,625
G	UW 57	0,625
H	580	0,625
I	UW12	0,625
J	UW36	1,25
K	UW31	0,625

RIPRODUCIBILITÀ

Gli studi di riproducibilità sono stati condotti da tre diversi laboratori. Ai laboratori partecipanti sono stati forniti pannelli di 10 campioni codificati in cieco. I campioni sono stati ordinati casualmente all'interno di ciascun pannello per mascherare le identità dei campioni. I pannelli includevano campioni prodotti artificialmente come campioni positivi moderati (15 IFU/mL), campioni bassi positivi (5 IFU/mL) e campioni alti negativi (0,078 IFU/mL). Il pannello comprendeva anche un campione negativo, un controllo positivo e un controllo negativo. L'analisi è stata condotta da diversi operatori in ciascun laboratorio lo stesso giorno (variabilità intra-analisi) per cinque giorni (variabilità inter-analisi). Tre lotti di Alethia Chlamydia e nove lettori Alethia sono stati utilizzati in questo studio. I controlli positivi e negativi sono stati testati ogni giorno di analisi. I risultati sono mostrati nella tabella seguente:

Tipo di campione	Laboratorio 1		Laboratorio 2		Laboratorio 3		Totale	
	Percentuale di concordanza		Percentuale di concordanza		Percentuale di concordanza		Percentuale di concordanza	
Positivo moderato	29/30	96,7%	29/30	96,7%	28/30	93,3%	86/90	95,6%
Basso Positivo	30/30	100,0%	29/30	96,7%	26/30	86,7%	85/90	94,4%
Alto Negativo	30/30	100,0%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	89/90	98,9%
Negativo	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Controllo Negativo	10/10	100,0%	10/11	90,9%	10/10	100,0%	30/31	96,8%
Controllo Positivo	10/10	100,0%	10/11	90,9%	10/10	100,0%	30/31	96,8%

CROSS-REATTIVITÀ

Sono stati eseguiti studi di reattività crociata con campioni di urina positivi e negativi inoculati con microorganismi ad una concentrazione finale di 1,2 x 10⁶ CFU/mL. Nessuno dei seguenti organismi ha reagito con Alethia Chlamydia: *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, e *Neisseria subflava*.

ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI

Le seguenti sostanze chimiche, alle specifiche concentrazioni saturate di solvente/diluente, non interferiscono con i risultati del test: Acido acetilsalicilico (4 mg/mL), acetaminofene (3,2 mg/mL) e polvere per il corpo femminile (2,5% peso/volume).

Le seguenti sostanze biologiche, alle specifiche concentrazioni saturate di solvente/diluente, non interferiscono con i risultati del test: Urina Acida [pH 4, (100% v/v)], Urina Alcalina [pH 9, (100% v/v)], Beta Estradiolo (0,07 mg/mL), DNA Umano (3,333 ng/mL), Leucociti (1,04 x 10⁶ cellule/mL), Mucina [ghiandola sottomandibolare bovina, tipo I-S (0,2% peso/volume)], Progesterone (7 mg/mL), Liquido Seminale (5,0% v/v), Sangue Intero (0,3% v/v).

alethia®

Chlamydia

DNA Amplification Assay

Test d'amplification de l'ADN pour la détection du *Chlamydia trachomatis*

REF 480450

IVD

BUT DE LA METHODE

Le test Alethia Chlamydia (CT), réalisé sur l'Incubateur/Lecteur Alethia, est un dispositif de diagnostic *in vitro* pour la détection de *Chlamydia trachomatis* dans des échantillons de frottis endocervicaux prélevés par un médecin (ou autre professionnel de santé formé) dans des prélèvements vaginaux obtenus en environnement clinique, dans des échantillons d'urine masculine et d'urine féminine.

Le test Alethia CT utilise la technique d'amplification isotherme de l'ADN facilitée par boucle (en anglais, loop-mediated isothermal DNA amplification ou LAMP) pour détecter *Chlamydia trachomatis* en ciblant un segment du génome de *Chlamydia trachomatis*. Les résultats du test Alethia CT peuvent servir d'aide au diagnostic d'une infection urogénitale à Chlamydia chez les patients asymptomatiques et symptomatiques. Ce test n'est pas destiné pour la surveillance des patients sous traitement pour les infections à chlamydia.

Le test Alethia CT est conçu pour les laboratoires hospitaliers, de référence ou dans les laboratoires d'état. Le dispositif n'est pas destiné à une utilisation en centre de soins.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le test moléculaire Alethia Chlamydia repose sur la technique d'amplification génique isotherme (LAMP).¹ Il vise une séquence de 240 paires de base (pb) du plasmide cryptique de *Chlamydia trachomatis*. La séquence d'ADN cible se trouve dans une région du plasmide qui code une protéine sans nom et se trouve dans les 33 souches de *C. trachomatis* dans lesquelles la séquence de plasmide cryptique est présente.

L'amplification génique isotherme utilise des amorces conçues spécialement pour fournir une amplification isotherme continue de l'ADN. Le pyrophosphate de magnésium est un produit secondaire de cette amplification, et forme un précipité blanc qui trouble la solution de réaction. Les caractéristiques d'absorbance de la solution de réaction sont lues par l'Incubateur/Lecteur Alethia de Meridian. La présence de l'ADN cible est indiquée par la modification des caractéristiques d'absorbance de la solution de réaction en raison de la précipitation du pyrophosphate de magnésium. En l'absence de l'ADN cible, aucune modification significative de l'absorbance de l'échantillon n'est observée.

Le kit Alethia Chlamydia comprend le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhea, des dispositifs de test Alethia Chlamydia et de l'huile minérale. Le contrôle de dosage Alethia, utilisé pour la dilution et la préparation des échantillons, est une solution tamponnée qui contient des cellules *E. coli* traitées au formol abritant de l'ADN de *Staphylococcus aureus*. Le dispositif de test Alethia Chlamydia contient une bille de réactif d'amplification lyophilisé dans chacun des deux puits : un puits TEST avec des amorces spécifiques pour la chlamydia et un puits CONTRÔLE avec des amorces spécifiques pour *S. aureus*. L'ADN de *S. aureus* de contrôle et les amorces spécifiques pour *S. aureus* dans le puits CONTRÔLE jouent le rôle de contrôle interne du dosage. Pendant la préparation des échantillons, chaque échantillon de patient est dilué avec le réactif de contrôle contenant la cible contrôle *S. aureus*. L'ajout d'ADN de *S. aureus* à l'échantillon du patient permet de traiter en parallèle l'ADN cible et l'ADN de contrôle au cours de la préparation, l'amplification et de la détection de l'échantillon. Le contrôle interne est utilisé pour surveiller l'extraction de l'ADN, l'inhibition possible de l'amplification, la performance des réactifs du test et l'efficacité du processus pour l'échantillon. La séquence cible de *S. aureus* doit être amplifiée et détectée dans la réaction finale. Dans le cas contraire, le test est considéré comme étant non valide et les résultats du patient ne sont pas rendus.

L'Incubateur/Lecteur Alethia suit les modifications des caractéristiques d'absorbance en mesurant la transmission de la lumière à travers les solutions de réaction TEST et CONTRÔLE. La transmission de la lumière est mesurée au début (Signal_{initial}, S_i) et à la fin (Signal_{final}, S_f) du processus d'amplification. Le lecteur Alethia calcule la variation de la transmission de la lumière entre le début et la fin du processus d'amplification (S_f/S_i) et compare le rapport à une valeur seuil prédéfinie.

Des valeurs seuil prédéfinies pour la chambre de TEST sont utilisées pour présenter les résultats des échantillons. Les rapports de la chambre de TEST S_f/S_i inférieurs à 82 % sont présentés comme « POSITIFS »; les rapports de la chambre de S_f/S_i supérieurs ou égaux à 82 % sont présentés comme « NÉGATIFS ». Les valeurs numériques ne sont pas présentées.

Des valeurs seuil prédéfinies pour le puits CONTRÔLE sont utilisées pour déterminer la validité du test. Les rapports S_f/S_i du puits CONTRÔLE inférieurs à 90 % sont considérés valides et conduisent au rendu des résultats du puits TEST (POSITIF, NÉGATIF). Les rapports S_f/S_i du puits CONTRÔLE égaux ou supérieurs à 90 % sont considérés non valides et empêchent le rendu des résultats du puits TEST. Les puits CONTRÔLE non valides entraînent un résultat patient « NON VALIDE ». Les valeurs numériques ne sont pas présentées.

Des critères d'exclusion plus sévères sont appliqués à la réaction du puits CONTRÔLE pour s'assurer que l'amplification n'est pas inhibée, que les réactifs fonctionnent comme prévu et que le processus d'amplification de l'échantillon s'est déroulé de manière appropriée.

PRINCIPE DU TEST

Chlamydia trachomatis est l'une des infections bactériennes sexuellement transmissibles les plus répandues dans le monde. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'il y a, chaque année, 92 millions de cas d'infections à *C. trachomatis*.² La chlamydie reste la maladie sexuellement transmissible la plus courante aux États-Unis, avec plus de 1,3 million de cas nouveaux en 2010.³

Les chlamydiées sont des bactéries intracellulaires obligatoires, non mobiles, gram négatives. L'espèce *C. trachomatis* est constituée de quinze sérotypes (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3), classés en 3 groupes, chacun d'eux étant associé à un état différent de la maladie. Les sérotypes A à C sont responsables de maladies oculaires ; les sérotypes D à K constituent la cause principale des infections génitales par chlamydia chez l'homme et la femme. Les sérotypes L1, L2 et L3 sont responsables du lymphogranulome vénérien. L'infection à *C. trachomatis* provoque cervicite, urétrite, salpingite, proctite et endométrite chez les femmes, et urétrite, épithymite et diarrhée chez les hommes. L'infection asymptomatique est courante aussi bien chez l'homme que chez la femme. Non traitée, la chlamydia peut causer des problèmes de santé graves chez la femme, telles que maladie inflammatoire pelvienne (MIP), grossesse extra-utérine et stérilité.⁴ L'organisme peut être transmis dans le canal de naissance. Les enfants nés de mères infectées sont à risque significativement plus élevé pour l'ophtalmie néonatale et la pneumonie.⁴ Les centres de prévention et de contrôle des maladies aux États-Unis recommandent un dépistage annuel de la chlamydia pour toutes les femmes sexuellement actives ≤ 25 ans en raison des risques associés à l'infection à chlamydia.⁴

MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

1. **Contrôle du dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhea (Contrôle de dosage):** solution tamponnée au phosphate contenant un colorant bleu et des cellules *E. coli* traitées au formol abritant un plasmide contenant un segment du génome de *S. aureus*, conservé à l'aide d'azide de sodium (0,09%). Conditionné dans un flacon avec embout compte-gouttes.
2. **Dispositif de test Alethia Chlamydia:** dispositif à deux puits, conditionné dans un sachet en aluminium, contenant des réactifs d'amplification lyophilisés (ADN polymérase, désoxynucléotides triphosphates) et des amorces spécifiques de chlamydia (puits TEST) ou des amorces de contrôle (puits CONTRÔLE).
3. **Huile minérale**
4. **Pipettes de transfert**

MATERIEL FOURNI SEPARÉMENT

M-prep: Kit, Meridian Bioscience, Inc., de préparation d'échantillon d'ADN Numéro de catalogue: 281110

MATERIEL NON FOURNI

1. Gants jetables en latex, non poudrés
2. Embouts de pipettes résistants aux aérosols, sans ADNase/ARNase
3. Récipients stériles, en plastique, pour la collecte d'urine, sans conservateur
4. MSwab™: système de collecte, conservation et transport pour applications moléculaires et pour culture, Copan Flock Technologies Srl, Numéro de catalogue 6E028N.MER
5. Contrôles externes NATrol™ *Chlamydia trachomatis* (Souche D-UW-3), Zeptomatrix, Numéro de catalogue NATCT(D-UW3)-ERCL
6. Tampon Tris-EDTA (TE) de qualité biologie moléculaire
7. Tubes de microcentrifugation sans nucléase, 2 mL

EQUIPEMENT NON FOURNI

1. Microcentrifugeuse capable de 2000 ± 250 FCR (2000 ± 250 x g)
2. Incubateur/Lecteur Alethia, Meridian Bioscience, Inc. Numéro de catalogue: 610189
3. Micropipette(s) pouvant distribuer 50 µL et 250 µL
4. Minuteur

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique *in vitro*.
2. Ne pas mélanger les réactifs de contrôle de dosage ou les dispositifs de test appartenant à des lots différents. L'huile minérale est interchangeable à condition de respecter les dates limites de péremption indiquées.
3. Respecter les recommandations de biosécurité de niveau 2 et les bonnes pratiques de laboratoire pendant l'analyse.⁵ Traiter tous les échantillons et tous les dispositifs de tests usagés comme susceptibles de transmettre des agents infectieux. Ne pas manger, boire ou fumer dans les espaces où les échantillons ou les réactifs du kit sont manipulés.
4. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons. Se laver minutieusement les mains après la manipulation.
5. Suivre les programmes de contrôle de la qualité pour les laboratoires de diagnostic moléculaire.
6. Le dispositif de test Alethia Chlamydia contient des réactifs lyophilisés. Ne pas retirer la pochette de protection avant d'être prêt à effectuer le test.
7. Le dispositif de test Alethia Chlamydia comporte un loquet conçu pour éviter la contamination de la zone de test par le produit d'amplification. NE PAS utiliser les dispositifs de test dont le loquet est endommagé.
8. Jeter les dispositifs de test Alethia utilisés immédiatement après le test en laissant le loquet bien en place. NE PAS ouvrir le dispositif de test après utilisation. L'ouverture du dispositif après l'amplification peut contaminer la zone de test avec le produit d'amplification.

DANGER ET MISES EN GARDE

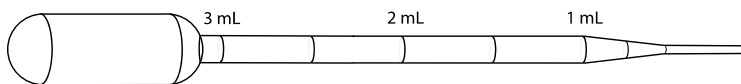
A notre connaissance, il n'y pas de risque connu associé à ce produit.

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration figure sur l'étiquette du kit. Conserver le kit à une température comprise entre 2 C et 30 C.

REMARQUES SUR LA PROCEDURE

La pipette de transfert incluse dans le kit Alethia Chlamydia est emballée séparément et peut distribuer jusqu'à 3 mL. La pipette se présente comme dans le schéma ci-dessous.



PREPARATION DES REACTIFS

S'assurer que les réactifs du kit sont à température ambiante (19-30 C) avant leur emploi. Si les réactifs ne sont pas amenés à la température ambiante avant l'emploi, les résultats pourraient être erronés.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Types d'échantillon: frottis endocervicaux recueillis par un médecin, frottis vaginaux de patiente (en environnement clinique), urine masculine et urine féminine

Collecte d'échantillons de frottis vaginaux et endocervicaux

Les échantillons de frottis vaginaux et endocervicaux doivent être recueillis par des professionnels médicaux, conformément aux directives de l'établissement

Des échantillons de frottis vaginal peuvent être recueillis par la patiente elle-même, à condition que cela soit fait selon les instructions et sous la supervision d'un professionnel de santé qualifié. Le respect des directives de l'établissement est essentiel

Collecte d'échantillons d'urine

Les échantillons d'urine doivent être recueillis dans un récipient en plastique, stérile et sans agent de conservation. Pour garantir la qualité des échantillons, il convient d'appliquer la procédure suivante :

1. Ne pas laisser le patient/la patiente uriner pendant au moins 1 heure avant le prélèvement des échantillons.
2. Demander au patient de recueillir les 10 à 30 premiers millilitres d'urine émise (la première partie du flux, pas celle du milieu) directement dans le récipient de collecte.
3. Refermer et étiqueter le récipient de collecte avec les informations concernant le patient et la collecte de l'échantillon

Les écouvillons et l'urine collectés doivent être conservés au réfrigérateur (2-8 C) après la collecte. Les échantillons réfrigérés peuvent être conservés jusqu'à 7 jours avant d'être analysés. Ne pas congeler les échantillons.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

REMARQUE: mettre en marche l'Incubateur/Lecteur Alethia. Veiller à ce que la vérification de performance requises ait été effectuée avant le début de la PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS. Consulter le manuel de l'utilisateur du lecteur Alethia pour obtenir de plus amples renseignements sur l'installation et le fonctionnement de l'appareil.

Consulter la notice du kit de préparation des échantillons d'ADN *M-prep* pour des informations concernant la préparation, l'orientation et l'utilisation de la colonne. Utiliser 1 colonne *M-prep* par échantillon. Retirer le capuchon du haut de la colonne, puis l'embout à dévisser du bas, et placer l'embout de la colonne dans un tube *M-prep* pour la vider. Les colonnes *M-prep* drainées doivent être utilisées dans un délai de 1 heure.

S'assurer que les échantillons sont à température ambiante (19-30 C) avant la préparation des échantillons.

Préparation des échantillons sur écouvillons

1. Pour mélanger l'échantillon, faire tourner l'écouvillon recueilli dans le milieu ou retourner le récipient. Ouvrir le récipient contenant le milieu avec précaution.
2. À l'aide d'une pipette de transfert, transférer 1,5 mL du milieu de transport de l'écouvillon dans un nouveau tube à de microcentrifugation *M-prep* à bouchon à vis de 2,0 mL. Jeter la pipette de transfert.
3. Passer brièvement le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhea au Vortex. Ajouter 1 goutte du contrôle de dosage dans le tube *M-prep* contenant l'échantillon. **L'échantillon préparé aura un aspect bleu clair après ajout du réactif de contrôle de dosage.**
4. Boucher le tube *M-prep* contenant l'échantillon.

Préparation des échantillons d'urine

1. Faire tourner le récipient de collecte d'urine pour mélanger. Ouvrir le récipient d'urine avec précaution.
2. À l'aide d'une pipette de transfert, transférer 1,5 mL d'urine dans un nouveau tube de microcentrifugation *M-prep* à bouchon à vis. Jeter la pipette de transfert.
3. Passer brièvement le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhea au Vortex. Ajouter 1 goutte du contrôle de dosage dans le tube *M-prep* contenant l'échantillon. **L'échantillon préparé aura un aspect bleu clair après ajout du réactif de contrôle de dosage.**
4. Boucher le tube *M-prep* contenant l'échantillon.

Préparation du contrôle positif externe

1. Passer le contrôle externe NATrol™ *Chlamydia trachomatis* au Vortex.
2. Transférer 1,5 mL de tampon TE dans un tube de microcentrifugation sans nucléase de 2,0 mL.
3. À l'aide d'une micropipette, ajouter 250 µL de Contrôle externe dans le tube contenant le tampon TE
4. Passer brièvement le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhea au Vortex. Ajouter 1 goutte du contrôle de dosage dans le tube *M-prep* contenant l'échantillon.
5. Boucher le tube de microcentrifugation contenant le contrôle positif externe.

Préparation du contrôle externe négatif

1. Transférer 1,75 mL de tampon TE dans un tube de microcentrifugation sans nucléase de 2,0 mL.
2. Passer brièvement le contrôle de dosage Alethia Chlamydia/Gonorrhea au Vortex. Ajouter 1 goutte du contrôle de dosage dans le tube *M-prep* contenant l'échantillon.
3. Boucher le tube de microcentrifugation contenant le contrôle négatif externe.

Traitement des échantillons

REMARQUE: la quantité d'échantillon recueillie à la fin de la procédure de traitement des échantillons doit être suffisante pour réaliser 2 tests Alethia.

1. Centrifuger chaque tube *M-prep* contenant de l'échantillon pendant 3 minutes à 2000 ± 250 FCR (2000 ± 250 x g).
2. Retirer le tube *M-prep* de la microcentrifugeuse. Décanter manuellement le liquide surnageant sans perturber le culot formé pendant la centrifugation
3. À l'aide d'une micropipette, ajouter 250 µL de tampon *M-prep I* dans le tube *M-prep*. Jeter l'embout de la pipette. Passer au Vortex pendant 10 secondes.
4. À l'aide d'une micropipette réglée sur 250 µL, transférer la totalité de ce volume d'échantillon préparé dans la partie supérieure d'une colonne *M-prep* étiquetée et préparée de façon appropriée. Attendre environ 2 minutes, ou jusqu'à ce que l'échantillon ait été absorbé par la colonne et que l'écoulement s'arrête. Cette étape ne devrait pas prendre plus de 30 minutes.
5. À l'aide d'une micropipette, ajouter 250 µL de tampon *M-prep II* dans la partie supérieure d'une colonne *M-prep*. Jeter l'embout de la pipette. **La colonne virera au rouge après l'ajout de tampon M-prep II.** Attendre environ 2 minutes, ou jusqu'à ce que le tampon de couleur rouge soit absorbé par la colonne et que l'écoulement s'arrête. Cette étape ne devrait pas prendre plus de 30 minutes.
6. Retirer la dernière goutte de liquide de l'embout de la colonne à l'aide du tube *M-prep*. Jeter le tube.
7. Placer un tube *M-prep* propre sous la colonne *M-prep*. À l'aide d'une micropipette, ajouter 250 µL de tampon *M-prep III* dans la partie supérieure de la colonne *M-prep*. Jeter l'embout de la pipette. Attendre environ 2 minutes ou jusqu'à ce que l'écoulement s'arrête. Cette étape ne devrait pas prendre plus de 30 minutes.
8. Retirer la dernière goutte de liquide de l'embout de la colonne à l'aide du tube *M-prep*. Etiqueter le tube avec les informations d'identification de l'échantillon et passer à la procédure de test.

PROCEDURE DE TEST

REMARQUE: Incubateur/Lecteur Alethia peut traiter un maximum de 10 dispositifs de test par série.

1. Retirer 1 dispositif de test Alethia Chlamydia de son enveloppe de protection par échantillon. Ouvrir dispositif avec précaution en soulevant le loquet et en maintenant celui-ci bien droit afin que les réactifs lyophilisés ne tombent pas à l'ouverture. Placer le dispositif sur une surface plane ou dans un support adapté pour le recevoir.
2. Transférer 50 µL de chaque échantillon vers le puits TEST (gauche/bille blanche) et le puits CONTRÔLE (droite/bille jaune) du dispositif de test Alethia. Veiller à ne pas introduire de bulles d'air dans le mélange réactionnel. Ne pas mélanger les mélanges réactionnels à la pipette.
3. Ajouter 1 goutte d'huile minérale à la fois dans le puits TEST et dans le puits CONTRÔLE. Fermer le dispositif de test Alethia et verrouiller en rabattant le loquet.
4. Tapoter le dispositif sur la paillasse ou mélanger pour éliminer les bulles d'air. Examiner soigneusement le dispositif de test pour vérifier la réhydratation de la bille de contrôle/de test, l'absence de bulles d'air dans le puits et de liquide au sommet du dispositif. Si les billes ne sont pas dissoutes, en cas de présence de bulles d'air ou de liquide au sommet du dispositif, tapoter celui-ci sur la paillasse et répéter l'examen visuel. L'amplification et la détection doivent commencer dans les 15 minutes.
5. Insérer le dispositif de test Alethia dans le lecteur Alethia et lancer l'opération. Les résultats seront affichés à la fin de l'exécution du test.

INTERPRETATION DES RESULTATS

ID échantillon	Résultats indiqués	Interprétation
Echantillon de patient	POSITIF	L'échantillon contient l'ADN cible du <i>Chlamydia trachomatis</i> .
	NEGATIF	Aucun ADN de <i>Chlamydia trachomatis</i> n'a été détecté.
	NON VALIDE	Aucun rendu de résultat possible. Recommencer le test à l'aide de l'échantillon de patiente d'origine Spécimen de patient inhibiteur, mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
Contrôle positif	POSITIF	Résultat de contrôle positif valide. Réactifs actifs au moment de l'utilisation, fonctionnement correct du lecteur Alethia.
	NEGATIF	Résultat de contrôle non valide. La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.
	NON VALIDE	Aucun rendu de résultat possible. Recommencer l'intégralité de l'analyse à l'aide des échantillons d'origine. Mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
Contrôle négatif	POSITIF	Résultat de contrôle non valide. La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.
	NEGATIF	Résultat de contrôle négatif valide. Réactifs actifs au moment de l'utilisation, fonctionnement correct du lecteur Alethia.
	NON VALIDE	Aucun rendu de résultat possible. Recommencer l'intégralité de l'analyse à l'aide des échantillons d'origine. Mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
PUITS VIDE	AUCUN	Aucun dispositif de test Alethia dans le puits du lecteur Alethia OU le dispositif de test Alethia présent ne répond pas en raison d'une mauvaise préparation de l'échantillon, de saleté ou d'un mauvais positionnement du dispositif. Recommencer le test à partir des échantillons d'origine.

CONTROLE DE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

- Chaque dispositif contient un contrôle interne qui vérifie l'absence d'inhibition de l'amplification, l'efficacité des réactifs de test et le processus de test des échantillons.
- Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'emploi de matériels de contrôle. Les utilisateurs doivent suivre les directives locales, nationales ou fédérales appropriées relatives à l'exécution de contrôles de qualité externes.
- Il est recommandé de vérifier la réactivité de chaque nouveau lot et chaque nouvel envoi d'Alethia Chlamydia à la réception et avant l'emploi. Les tests de contrôle externe doivent être effectués par la suite conformément aux directives locales, nationales et fédérales. Le kit de test Alethia Chlamydia ne peut pas être utilisé pour tester les patients si les contrôles externes ne fournissent pas de résultats corrects.
- Utiliser un dispositif de test séparé pour chaque réactif de contrôle externe.

VALEURS ATTENDUES

L'incidence de *Chlamydia trachomatis* tel qu'il a été détecté par le test Alethia Chlamydia sur les échantillons non sélectionnés, prélevés de manière prospective pendant la période d'études cliniques, a été de 2,8% (3/107) avec des écouvillons endocervicaux, 3,9% (4/102) avec des écouvillons vaginaux et 16,1% (73/454) dans l'urine.

LIMITES DU TEST

- Ce produit ne peut être utilisé qu'avec l'instrument Alethia.
- Le test Alethia Chlamydia est un test qualitatif et ne fournit pas de valeurs ou d'informations quantitatives sur la charge de l'organisme.
- La performance du test Alethia Chlamydia avec des écouvillons endocervicaux et vaginaux a été établie à l'aide du système de collecte, de conservation et de transport Copan MSwab™ pour applications moléculaires et culture, Numéro de catalogue 6E028N.MER. L'utilisation de systèmes de collecte avec d'autres écouvillons peut conduire à des résultats erronés et n'est pas recommandée.
- La détection des acides nucléiques dépend de la réalisation correcte du prélèvement, de la manipulation, du transport, de la conservation et de la préparation de l'échantillon. Le non-respect de la procédure appropriée lors de l'une de ces étapes peut entraîner des résultats incorrects.
- Les acides nucléiques de l'organisme peuvent persister *in vivo*, indépendamment de la viabilité de l'organisme. Le test Alethia Chlamydia ne fait de pas de distinction entre organismes viables et non viables.
- Comme avec tous les tests de diagnostic moléculaire, (A) des résultats faussement négatifs peuvent se produire en raison de la présence d'inhibiteurs, d'une erreur techniques, d'un mélange d'échantillons ou de faibles quantités d'organismes dans l'échantillon clinique; (B) des résultats faussement positifs peuvent se produire en raison de la présence d'une contamination croisée par des organismes cibles, leurs acides nucléiques ou du produit amplifié, et en raison de signaux non spécifiques.

PERFORMANCES DU TEST

L'Alethia Chlamydia, test par amplification de l'ADN a été évalué entre juillet et septembre 2014. Le prélèvement d'échantillons cliniques a été réalisé par trois entités indépendantes représentant des régions géographiquement distinctes aux États-Unis. Des écouvillonnages endocervicaux recueillis par un médecin, des écouvillonnages vaginaux de patiente, des échantillons d'urine féminine et d'urine masculine ont été recueillis de manière prospective chez des patients symptomatiques et asymptomatiques. L'étude a été complétée avec des restes d'échantillons cliniques d'urine prélevés chez des patients pour lesquels le dépistage de la chlamydia et/ou de la gonorrhée a été demandé par un médecin. Les échantillons cliniques ont été testés avec l'Alethia Chlamydia par le fabricant.

La performance d'Alethia Chlamydia a été comparée à un test PCR, disponible dans le commerce, pour la détection de *Chlamydia trachomatis* et à un procédé comparateur par un laboratoire de référence indépendant. Les informations cliniques de l'étude sont reportées ci-dessous

Tableau 1 Caractéristiques des performances - *C. trachomatis*

Comparateur	Alethia Chlamydia Tous les échantillons combinés, tous les Patients Ecouvillonnages endocervicaux, écouvillonnages vaginaux, échantillons d'urine féminine et d'urine masculine			
	Positif	Négatif	Non Valide	Pas d'écoulement
Positif	67	2	4	0
Négatif	12	550	12	6
Non testé	1	9	0	0
Total	80	561	16	6
				95% CI
Sensibilité	67/69	97,1%	90,0 – 99,2%	
Spécificité	550/562	97,9%	96,3 – 98,8%	
Corrélation	617/631	97,8%	96,3 – 98,7%	
Taux de résultats non valides	16/663	2,4%	1,5 – 3,9%	

Seize échantillons ont produit des résultats non valides, cinq écouvillons et 11 échantillons d'urines. Six échantillons ne se sont pas écoulés à travers la colonne **M-prep** et n'ont pas produit de résultats Alethia.

L'étude a été réalisée avec des échantillons prélevés chez des patients pour lesquels le dépistage de la chlamydia et/ou de la gonorrhée a été prescrit par un médecin. Cent dix-sept patients (25,0%) ont été considérés comme asymptomatiques et 55 (11,8%) ont été considérés comme symptomatiques. Les 295 patients restants n'ont pas été classés.

Les données relatives à l'âge étaient connues pour 466 patients chez lesquels l'échantillon a été testé. L'âge des patients allait de 14 à 66 ans. Les patients de moins de 14 ans ont été exclus de l'étude. Deux cent quatre-vingt quinze (64,0%) des patients avaient entre 14 et 21 ans; 166 (35,5%) avaient entre 21 et 65 ans; et 1 (0,2%) avait plus de 65 ans mais moins de 90 ans. L'âge de 1 (0,2%) patient était inconnu. Aucune différence en raison de l'âge n'a été observée.

La population de l'étude comprenait 277 (59,3%) patientes (femmes) et 190 (40,7%) patientes (hommes). Aucune influence n'était attendue sur les caractéristiques de performance du test Alethia Chlamydia du fait du sexe des patients.

SENSIBILITE ANALYTIQUE

La sensibilité analytique ou limite de détection du test Alethia Chlamydia a été déterminée pour une souche de *C. trachomatis*, représentant le sérotype D. La limite de détection a été déterminée en utilisant 60 réplicats et une probabilité théorique (par exemple à 95%, où 57 sur 60 réplicats sont positifs) d'obtenir des réponses positives. La sensibilité analytique observée est résumée ci-dessous.

Sérotype	Souche	IFU/mL
D	D-UW3r	2,5

REACTIVITE DU TEST

Les souches de *C. trachomatis* suivantes ont été testées et ont produit une réaction positive avec Alethia Chlamydia aux concentrations indiquées:

Sérotype	Souche ID	Concentration (IFU/mL)
A	Har 13	2,5
B	Har 36	0,625
Ba	Apache 2	0,625
C	Har 32	0,625
E	Bour	10,0
F	IC-Cal3	0,625
G	UW 57	0,625
H	580	0,625
I	UW12	0,625
J	UW36	1,25
K	UW31	0,625

REPRODUCTIBILITE DU TEST

Des études de reproductibilité ont été menées par trois laboratoires. Les laboratoires participants ont reçu des microplaques de 10 échantillons codées en aveugle. Les échantillons ont été triés au hasard pour chaque microplaque afin de masquer les identités. Ces microplaques comprenaient des échantillons artificiels fabriqués comme des échantillons positifs modérés (15 IFU/mL), des échantillons faiblement positifs (5 IFU/mL) et des échantillons fortement négatifs (0,078 IFU/mL). La microplaque comprenait également un échantillon négatif, un contrôle positif et un contrôle négatif. Les tests furent exécutés par des techniciens différents dans chaque centre, le même jour (variabilité intra-test), pendant cinq jours (variabilité inter-tests). Trois lots d'Alethia chlamydia et neuf instruments Alethia furent utilisés pour cette étude. Les contrôles positifs et négatifs furent testés chaque jour de test. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous:

Type d'échantillon	Centre 1		Centre 2		Centre 3		Total	
	Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage	
Modérément positif	29/30	96,7%	29/30	96,7%	28/30	93,3%	86/90	95,6%
Faiblement Positif	30/30	100,0%	29/30	96,7%	26/30	86,7%	85/90	94,4%
Fortement Negative	30/30	100,0%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	89/90	98,9%
Négatif	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Contrôle négatif	10/10	100,0%	10/11	90,9%	10/10	100,0%	30/31	96,8%
Contrôle positif	10/10	100,0%	10/11	90,9%	10/10	100,0%	30/31	96,8%

REACTIONS CROISEES

Des études de réactivité croisée furent réalisées avec des échantillons d'urine positifs et négatifs dans lesquels avaient été inoculés des micro-organismes à une concentration finale de $1,2 \times 10^6$ UFC/mL. Aucun des organismes suivants n'a réagi avec l'Alethia Chlamydia: *Acinetobacter Iwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, et *Neisseria subflava*.

TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES

Les substances chimiques suivantes, aux concentrations de saturation solvant/diluant spécifiées, n'influencent pas les résultats de test: Acide acétylsalicylique (4 mg/mL), acétaminophène (3,2 mg/mL) et poudre pour le corps pour femmes (2,5% poids/vol.).

Les substances biologiques suivantes, aux concentrations de saturation solvant/diluant spécifiées, n'influencent pas les résultats de test: urine acide [pH 4, (100% vol./vol.)], urine alcaline [pH 9, (100% vol./vol.)], estradiol (0,07 mg/mL), ADN humain (3.333 ng/mL), leucocytes ($1,04 \times 10^6$ cellules/mL), mucine [glande submandibulaire bovine type I-S (0,2% poids/vol.)], progestérone (7 mg/mL), liquide séminal (5,0% vol./vol.), sang total (0,3% vol./vol.).

alethia®

Chlamydia

DNA Amplification Assay

Ensayo de amplificación de ADN para la detección de *Chlamydia trachomatis*

REF 480450

IVD

USO INDICADO

El ensayo Alethia Chlamydia (CT), que se realiza en el incubador/lector Alethia, es un dispositivo de diagnóstico in vitro para la detección de *Chlamydia trachomatis* en hisopos endocervicales obtenidos por un médico (u otro profesional de la salud con formación adecuada), en muestras vaginales obtenidas con un hisopo por la paciente en el ámbito clínico, en muestras de orina masculina y en muestras de orina femenina.

El ensayo Alethia CT utiliza la tecnología de amplificación isotérmica de ADN mediante tallo-bucle (loop-mediated isothermal DNA amplification, LAMP) para la detección de *Chlamydia trachomatis* tomando como diana un segmento del genoma de *Chlamydia trachomatis*. Los resultados del ensayo Alethia CT pueden utilizarse como ayuda para el diagnóstico de la infección urogenital por clamidias en individuos asintomáticos y sintomáticos. Este ensayo no ha sido concebido para el control del tratamiento de las infecciones por clamidias.

El ensayo Alethia CT ha sido concebido para uso en laboratorios hospital, estatales o de referencia. Este dispositivo no ha sido concebido para uso a punto de cuido.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El ensayo molecular Alethia Chlamydia se basa en la tecnología de amplificación mediante tallo-bucle (LAMP).¹ La diana del ensayo es una secuencia de 240 pares de bases (pb) del plásmido críptico de *Chlamydia trachomatis*. La secuencia diana de ADN se encuentra en una región del plásmido que codifica una proteína sin nombre, y está presente en las 33 cepas de *C. trachomatis* en las que se ha notificado la secuencia del plásmido críptico.

La amplificación mediante tallo-bucle utiliza cebadores especialmente diseñados para proporcionar una amplificación isotérmica de ADN continua y específica. Un subproducto de la amplificación es la formación de pirofosfato de magnesio, que forma un precipitado blanco que provoca turbidez en la solución de reacción. Las características de absorbancia de la solución de reacción son monitorizadas por el incubador/lector Alethia de Meridian. Los cambios en las características de absorbancia de la solución de reacción creados por la precipitación del pirofosfato de magnesio indican la presencia del ADN diana. La ausencia del ADN diana tiene como resultado un cambio no significativo en la absorbancia de la muestra.

El kit Alethia Chlamydia incluye el control de ensayos Alethia Chlamydia/Gonorrhea, dispositivos de prueba Alethia Chlamydia y aceite mineral. El control de ensayos Alethia, utilizado para la dilución y preparación de muestras, es una solución tamponada que contiene células de *E. coli* tratadas con formol que albergan ADN de *Staphylococcus aureus*. El dispositivo de prueba Alethia Chlamydia contiene una microesfera de reactivo de amplificación liofilizado en cada una de las dos cámaras: una cámara de PRUEBA con cebadores específicos para Chlamydia y una cámara de CONTROL con cebadores específicos para *S. aureus*. El ADN de *S. aureus* del reactivo de control y los cebadores específicos para *S. aureus* de la cámara de CONTROL funcionan como control interno para el ensayo. Durante la preparación de las muestras, la muestra de cada paciente se diluye con el reactivo de control que contiene la diana *S. aureus* de control. La adición de ADN de *S. aureus* a la muestra del paciente permite el procesamiento paralelo del ADN diana y del ADN de control durante la preparación, la amplificación y la detección de la muestra. El control interno verifica la extracción del ADN, la inhibición de la amplificación, el rendimiento de los reactivos del ensayo y la eficacia del procesamiento de la muestra. La diana *S. aureus* de control debe amplificarse y detectarse en la reacción final, en caso contrario la prueba se considerará no válida y no se notificarán los resultados del paciente.

El incubador/lector Alethia monitoriza los cambios en las características de absorbancia mediante la medición de la transmisión de la luz a través de las soluciones de reacción de Prueba y Control. La transmisión de la luz se comprueba al inicio del proceso del ensayo (señal inicial, S_i) y al final del proceso del ensayo (señal final, S_f). El lector Alethia calcula el cambio producido en la transmisión de la luz entre el final del proceso y el inicio del proceso (S_f:S_i) y compara el cociente con un valor de corte fijo.

Los valores de corte fijos de la cámara de PRUEBA se utilizan para notificar los resultados de las muestras. Los cocientes de la cámara de PRUEBA S_f:S_i inferiores al 82 % se muestran como 'POSITIVO'; los cocientes de la cámara de PRUEBA S_f:S_i superiores o iguales al 82 % se muestran como 'NEGATIVO'. No se notifican valores numéricos.

Los valores de corte fijos de la cámara de CONTROL se utilizan para determinar la validez. Los cocientes S_f:S_i de la cámara de CONTROL inferiores al 90 % se consideran válidos y permiten notificar los resultados de la cámara de PRUEBA (POSITIVO, NEGATIVO). Los cocientes S_f:S_i de la cámara de CONTROL superiores o iguales al 90 % se consideran no válidos e impiden notificar los resultados de la cámara de PRUEBA. Las reacciones no válidas de la cámara de CONTROL se notifican como 'NO VÁLIDAS'. No se notifican valores numéricos.

Los criterios de corte más rigurosos se aplican a la reacción de la cámara de CONTROL para garantizar que no se inhiba la amplificación, que los reactivos tengan el rendimiento esperado y que el procesamiento de muestras se haya realizado adecuadamente.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

La infección por *Chlamydia trachomatis* es una de las infecciones bacterianas de transmisión sexual más frecuentes del mundo. La Organización Mundial de la Salud estima que se registran cada año 92 millones de casos de infección por *C. trachomatis*.² La infección por Chlamydia sigue siendo la enfermedad infecciosa de transmisión sexual notificada con mayor frecuencia en los Estados Unidos, con más de 1,3 millones de casos notificados en 2010.³

Las Chlamydiae son bacterias intracelulares obligatorias, gram-negativas, no-motiles. La especie *C. trachomatis* está compuesta por quince serotipos (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 y L3), categorizados en 3 grupos, cada uno asociado a un estado diferente de la enfermedad. Los serotipos A-C son responsables de oftalmopatías; los serotipos D a K son la principal causa de infecciones genitales por Chlamydia en hombres y mujeres. Los serotipos L1, L2 y L3 son los responsables del linfogranuloma venéreo. La infección por *C. trachomatis* causa cervicitis, uretritis, salpingitis, proctitis y endometritis en mujeres, y uretritis, epididimitis y proctitis en hombres. La infección asintomática es frecuente tanto en hombres como en mujeres. Sin tratamiento, la infección por Chlamydia puede provocar problemas graves de salud en las mujeres, como enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), embarazo ectópico e infertilidad.⁴ El organismo puede transmitirse en el canal del parto; los niños nacidos de madres infectadas tienen un riesgo significativamente mayor de oftalmía neonatal y neumonía.⁴ Los centros para la prevención y el control de enfermedades estadounidenses recomiendan el cribado anual para Chlamydia en todas las mujeres sexualmente activas ≤ 25 años debido a los riesgos asociados a la infección por Chlamydia.⁴

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja

- Control de ensayos Alethia Chlamydia/Gonorrhea (control de ensayos): Solución tamponada con fosfato que contiene un tinte azul y células de *E. coli* tratadas con formol que albergan un plásmido que contiene un segmento del genoma de *S. aureus*, con azida sódica (0,09 %) como conservante. Envasada en un frasco con punta cuentagotas.
- Dispositivo de prueba Alethia Chlamydia: Dispositivo de dos cámaras, envasado en una bolsa de papel aluminio, que contiene reactivos de amplificación liofilizados (ADN-polimerasa, trifosfatos de desoxirribonucleótidos) y, o bien cebadores específicos para Chlamydia (cámara de PRUEBA) o bien cebadores de control (cámara de CONTROL).
- Aceite Mineral
- Pipetas de transferencia

MATERIALES PROPORCIONADOS POR SEPARADO

Kit de preparación de muestras de ADN *M-prep*™, Meridian Bioscience, Inc. Número de catálogo: 281110

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

- Guantes desechables de látex, sin polvo
- Puntas de pipeta resistentes a los aerosoles, sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa
- Botes para la recogida de muestras de orina, estériles, de plástico y sin conservantes
- MSwab™ Sistema de recogida, conservación y transporte para aplicaciones moleculares y de cultivo, Copan Flock Technologies Srl, Número de catálogo 6E028N.MER
- NATrol™ *Chlamydia trachomatis* Controles externos del proceso (Cepa D-UW-3), Zeptomatrix, Número de catálogo NATCT(D-UW3)-ERCL
- Tampón Tris-EDTA (TE) para biología molecular
- Tubos para microcentrifugadora sin nucleasas, 2 mL

EQUIPO NO PROPORCIONADO

- Microcentrifugadora de 2000 ± 250 FCR (2000 ± 250 x g)
- Incubador/Lector Alethia, Meridian Bioscience, Inc. Número de catálogo: 610189
- Micropipeta(s) para dispensar 50 µL y 250 µL
- Reloj de intervalos

PRECAUCIONES

- Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
- No intercambiar los reactivos de control de ensayos ni los dispositivos de prueba de diferentes lotes. El aceite mineral es intercambiable siempre que no haya caducado cuando se utilice.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio y las prácticas del nivel 2 de bioseguridad durante la prueba.⁵ Trate todas las muestras y los dispositivos de prueba usados como posibles transmisores de agentes infecciosos. No coma, beba ni fume en las zonas donde se manipulen los reactivos del kit o las muestras.
- Utilice guantes desechables cuando manipule las muestras y lávese bien las manos después.
- Deberían emplearse programas de control de calidad para laboratorios de pruebas moleculares.
- El dispositivo de prueba Alethia Chlamydia contiene reactivos liofilizados. La bolsa de protección no debería abrirse hasta que se esté listo para realizar el ensayo.
- El dispositivo de prueba Alethia Chlamydia incluye un sistema de cierre diseñado para evitar la contaminación de la zona de pruebas con el producto de amplificación. NO utilice dispositivos de prueba con cierres rotos.
- Deseche los dispositivos de prueba usados Alethia inmediatamente después de su procesamiento, dejando el dispositivo bien cerrado. NO abra el dispositivo de prueba después de su procesamiento. Abrir el dispositivo después de la amplificación puede provocar una contaminación de la zona de pruebas con el producto de amplificación.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

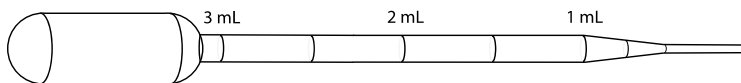
No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad se indica en la etiqueta del equipo. Almacene el equipo a una temperatura entre 2 y 30 C.

NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

La pipeta de transferencia incluida en el kit Alethia Chlamydia está envuelta individual y puede dispensar hasta 3 mL. Se incluye más abajo un diagrama de la pipeta.



PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Asegúrese de que los reactivos del kit estén a temperatura ambiente (19-30 C) antes de utilizarlos. Se pueden obtener resultados incorrectos si los reactivos no están a temperatura ambiente antes del uso.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Tipos de muestras: Hispos endocervicales obtenidos por un médico, hispos vaginales obtenidos por la paciente (en ámbitos clínicos), orina masculina y orina femenina

Obtención de muestras endocervicales y vaginales con hisopo

Las muestras en hispos endocervicales y vaginales deben ser obtenidas por profesionales de la salud debidamente formados, de acuerdo con las directrices del centro.

Las muestras en hispos vaginales pueden ser obtenidas por la propia paciente cuando un profesional de la salud con la debida formación le proporcione instrucción y supervisión. Deben seguirse las directrices del centro

Obtención de las muestras de orina

Las muestras de orina deben recogerse en envases estériles de plástico para dicho fin sin conservantes. Deben seguirse los siguientes pasos para asegurar la calidad de las muestras:

1. El paciente no debe orinar durante al menos 1 hora antes de la recogida de muestras.
2. Pida al paciente que recoja los primeros 10-30 mL de orina (la primera parte del chorro, no la parte central) directamente en el bote de recogida.
3. Tape y etiquete el envase de recogida con información sobre el paciente y la obtención de la muestra

Las muestras tomadas con hisopo y las de orina deben almacenarse refrigeradas (2-8 C) tras su obtención. Las muestras refrigeradas pueden guardarse hasta 7 días antes de realizar las pruebas. No congelar las muestras.

PREPARACIÓN DE MUESTRA

NOTA: Encienda el incubador/lector Alethia. Asegúrese de que se hayan completado las verificaciones de funcionamiento necesarias antes de iniciar la PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. Consulte el Manual del operador del Alethia lector para obtener más información acerca de la instalación y el funcionamiento del instrumento.

Consulte el prospecto de envase del kit de preparación de muestras de ADN *M-prep* para más información sobre la preparación de columnas, orientación y uso. Utilice 1 columna *M-prep* por muestra. Retire la tapa superior de la columna, y a continuación desenrosque la punta inferior, y coloque la punta de la columna en un tubo *M-prep* para su drenaje. Las columnas *M-prep* drenadas deben utilizarse en el plazo de 1 hora.

Asegúrese de que las muestras están a temperatura ambiente (19-30 C) antes de la preparación de las muestras.

Preparación de las muestras en hisopo

1. Agitar con movimientos circulares o invertir el hisopo obtenido en el medio para mezclar. Abrir con cuidado el contenedor del medio
2. Utilizando una pipeta de transferencia, transferir 1,5 mL del medio del hisopo a un tubo de 2,0 mL y tapón de rosca para microcentrifugadora *M-prep*. Desechar la pipeta de transferencia.
3. Mezclar brevemente en vórtex el control del ensayo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Añadir 1 gota del control del ensayo al tubo *M-prep* que contiene el medio de la muestra. **La muestra preparada tendrá un aspecto azul claro tras la adición del reactivo de control del ensayo.**
4. Tapar el tubo *M-prep* que contiene la muestra.

Preparación de la muestra de orina

1. Agitar con movimientos circulares el envase para la recogida de orina para mezclar. Abrir el contenedor de orina con cuidado.
2. Utilizando una pipeta de transferencia, transferir 1,5 mL de orina a un tubo de 2,0 mL y tapón de rosca para microcentrifugadora *M-prep*. Desechar la pipeta de transferencia.
3. Mezclar brevemente en vórtex el control del ensayo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Añadir 1 gota del control del ensayo al tubo *M-prep* que contiene el medio de la muestra. **La muestra preparada tendrá un aspecto azul claro tras la adición del reactivo de control del ensayo.**
4. Tapar el tubo *M-prep* que contiene la muestra.

Preparación del control positivo externo

1. Mezclar en vórtex el control externo del proceso NATrol™ *Chlamydia trachomatis*.
2. Transferir 1,5 mL de tampón TE a un tubo de 2,0 mL para microcentrifugadora sin nucleasas.
3. Utilizando una micropipeta, añadir 250 µL de control externo del proceso al tubo que contiene tampón TE
4. Mezclar brevemente en vórtex el control del ensayo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Añadir 1 gota del control del ensayo al tubo *M-prep* que contiene el medio de la muestra.
5. Tapar el tubo para microcentrifugadora que contiene el control externo.

Preparación del control negativo externo

1. Transferir 1,75 mL de tampón TE a un tubo de 2,0 mL para microcentrifugadora sin nucleasas.
2. Mezclar brevemente en vórtex el control del ensayo Alethia Chlamydia/Gonorrhea. Añadir 1 gota del control del ensayo al tubo *M-prep* que contiene el medio de la muestra.
3. Tapar el tubo para microcentrifugadora que contiene el control externo.

Procesamiento de la muestra

NOTA: La cantidad de muestra preparada que se obtiene al final de los pasos de procesamiento de la muestra debe ser suficiente para completar 2 pruebas Alethia.

1. Centrifugar cada tubo *M-prep* que contiene una muestra durante 3 minutos a 2000 ± 250 FCR (2000 ± 250 x g).
2. Retirar el tubo *M-prep* de la microcentrifugadora. Decantar manualmente el sobrenadante sin alterar el sedimento formado durante la centrifugación.
3. Utilizando una micropipeta, añadir 250 µL de tampón I *M-prep* al tubo *M-prep*. Desechar la punta de pipeta. Mezclar en vórtex 10 segundos.
4. Utilizando una micropipeta para 250 µL, transferir toda la muestra preparada a la parte superior de una columna *M-prep* adecuadamente etiquetada y preparada. Esperar aproximadamente 2 minutos, o hasta que la muestra haya sido absorbida por la columna y se detenga el flujo. Este paso no debería durar más de 30 minutos.
5. Utilizando una micropipeta, añadir 250 µL de tampón II *M-prep* a la parte superior de la columna *M-prep*. Desechar la punta de pipeta. **La columna tendrá un aspecto rojo tras la adición de tampón II *M-prep*.** Esperar aproximadamente 2 minutos, o hasta que el tampón rojo haya sido absorbido por la columna y se detenga el flujo. Este paso no debería durar más de 30 minutos.
6. Retirar la última gota de líquido de la punta de la columna con el tubo *M-prep*. Desechar el tubo.
7. Colocar un tubo *M-prep* limpio bajo la columna *M-prep*. Utilizando una micropipeta, añadir 250 µL de tampón III *M-prep* a la parte superior de la columna *M-prep*. Desechar la punta de pipeta. Esperar aproximadamente 2 minutos o hasta que se detenga el flujo. Este paso no debería durar más de 30 minutos.
8. Retirar la última gota de líquido de la punta de la columna con el tubo *M-prep*. Etiquetar el tubo con la información de identificación de la muestra y pasar al procedimiento de prueba.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

NOTA: Se pueden procesar un máximo de 10 dispositivos de prueba en cada proceso del incubador/lector Alethia.

1. Saque 1 dispositivo de prueba Alethia Chlamydia de su bolsa de protección por muestra. Abra el dispositivo con cuidado, levantando el cierre y, manteniéndolo vertical de modo que los reactivos liofilizados no se salgan al abrir el dispositivo. Coloque el dispositivo sobre una superficie plana o en una gradilla que pueda albergar el dispositivo.
2. Transfiera 50 µL de muestra a la cámara TEST (lado izquierdo/Perla Blanca) y a la cámara CONTROL (lado derecho/Perla Amarilla) del dispositivo de prueba Alethia. Tenga cuidado de no introducir aire en la mezcla de reacción. No mezcle las reacciones con pipeta.
3. Añada 1 gota de aceite mineral tanto a la cámara TEST como a la cámara CONTROL. Cierre el dispositivo de prueba Alethia y asegure bien el cierre.
4. Dé unos golpecitos en la parte plana superior del dispositivo o mezcle para quitar las burbujas de aire. Examine con cuidado en el dispositivo de prueba la rehidratación del micro esferas de control y prueba, y la presencia de burbujas de aire en la cámara y de líquido en la parte superior del dispositivo. Si advierte micro esferas sin disolver, burbujas de aire o líquido en la parte superior del dispositivo, dé unos golpecitos en la parte plana superior del dispositivo y repita la inspección visual. La amplificación y la detección deben comenzar en un plazo de 15 minutos.
5. Introduzca el dispositivo de prueba Alethia en el lector Alethia e inicie el proceso. Los resultados se mostrarán al final del proceso.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

ID de la muestra	Resultado notificado	Interpretación
Muestra de la paciente	POSITIVO	La muestra contiene ADN del <i>Chlamydia trachomatis</i> .
	NEGATIVO	No se ha detectado ADN del <i>Chlamydia trachomatis</i> .
	NO VÁLIDO	Sin resultados notificables. Repita la prueba usando la muestra de la paciente original. Muestra de la paciente inhibitoria, preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento a fallo de control interno.
Control positivo	POSITIVO	Resultado de control positivo válido. Reactivos activos en el momento del uso, el lector Alethia funciona correctamente.
	NEGATIVO	Resultado de control incorrecto. Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.
	NO VÁLIDO	Sin resultados notificables. Repita todo el proceso de ensayo usando las muestras originales. Preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno.
Control negativo	POSITIVO	Resultado de control incorrecto. Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.
	NEGATIVO	Resultado de control negativo válido. Reactivos activos en el momento del uso, el lector Alethia funciona correctamente.
	NO VÁLIDO	Sin resultados notificables. Repita todo el proceso de ensayo usando las muestras originales. Preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno.
POCILLO VACIO	NINGUNO	No hay ningún dispositivo de prueba de Alethia en el pocillo del lector Alethia. O El dispositivo de prueba del Alethia no funciona bien debido a un fallo en la preparación de la muestra o a que el dispositivo está sucio o mal colocado. Repita la prueba usando la muestra original.

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

- Cada dispositivo contiene un control interno que verifica la inhibición de la amplificación y la eficacia de los reactivos del ensayo y del procesamiento de la muestra.
- Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de materiales de control. Los usuarios deberían seguir las directrices federales, estatales y locales adecuadas relativas a la ejecución de controles de calidad externos.
- Se recomienda que la reactividad de cada nuevo lote y cada nuevo envío de Alethia Chlamydia se verifique a la recepción y antes de su uso. Se debe realizar pruebas de control externo a partir de ese momento, de conformidad con las directrices federales, estatales y locales adecuadas. El kit de prueba Alethia Chlamydia no debería utilizarse en pacientes si los controles externos no ofrecen los resultados correctos.
- Se debe utilizar un dispositivo de prueba independiente para cada reactivo de control externo.

VALORES ESPERADOS

La incidencia de *Chlamydia trachomatis* detectada por el ensayo Alethia Chlamydia en muestras sin seleccionar obtenidas prospectivamente durante el periodo de los estudios clínicos fue del 2,8 % (3/107) en hisopos endocervicales, 3,9 % (4/102) en hisopos vaginales y 16,1 % (73/454) en orina.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Este producto solo se puede utilizar con el instrumento Alethia.
- El ensayo Alethia Chlamydia es un ensayo cualitativo y no proporciona valores cuantitativos ni información sobre la cantidad de microorganismo.
- El rendimiento del ensayo Alethia Chlamydia con hisopos endocervicales y vaginales se ha determinado utilizando el sistema Copan MSwab™ de recogida, conservación y transporte para aplicaciones moleculares y de cultivo, número de catálogo 6E028N.MER. El uso de sistemas alternos para la obtención de muestras con hisopo puede dar lugar a resultados inadecuados y no se recomienda.
- La detección de ácidos nucleicos depende de una obtención, manipulación, transporte, almacenamiento y preparación adecuados de las muestras. El no seguir el procedimiento adecuado en cualquiera de estos pasos puede dar lugar a resultados incorrectos.
- Los ácidos nucleicos de los microorganismos pueden persistir *in vivo*, independientemente de la viabilidad del microorganismo. El ensayo Alethia Chlamydia no distingue entre organismos viables y no viables.
- Al igual que sucede con todas las pruebas de diagnóstico moleculares: (A) pueden producirse falsos resultados negativos debido a la presencia de inhibidores, a errores técnicos, a la mezcla de muestras o al escaso número de microorganismos presentes en la muestra clínica, y (B) pueden producirse falsos resultados positivos debido a la presencia de contaminación cruzada con los microorganismos objetivo, con sus ácidos nucleicos o con el producto amplificado, así como por señales inespecíficas.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

El ensayo de amplificación del ADN Alethia Chlamydia se evaluó entre julio y septiembre de 2014. La obtención de muestras clínicas se realizó en tres centros independientes que representan regiones geográficamente diferentes de los Estados Unidos. Las muestras endocervicales obtenidas con hisopo por médicos, los hisopos vaginales obtenidos por pacientes, y las muestras de orina femenina y de orina masculina se recogieron de forma prospectiva en pacientes sintomáticos y asintomáticos. El estudio fue complementado con muestras clínicas sobrantes de orina obtenidas de pacientes a quienes un médico había prescrito la realización de una prueba de clamidias y/o gonorrea. Las pruebas en las muestras clínicas con Alethia Chlamydia fueron realizadas por el fabricante.

El rendimiento del ensayo Alethia Chlamydia se comparó con un ensayo PCR conocido y disponible comercialmente para la detección de *Chlamydia trachomatis* y con un método de comparación de un laboratorio independiente de referencia. La información del estudio clínico se describe a continuación:

Tabla 1 Características de funcionamiento - *C. trachomatis*

Comparador	Alethia Chlamydia Todas las muestras combinadas, Todos los pacientes Hisopos endocervicales, hisopos vaginales, Orina femenina, Orina masculina			
	Positivo	Negativo	No válido	Sin flujo
Positivo	67	2	4	0
Negativo	12	550	12	6
No probado	1	9	0	0
Total	80	561	16	6
95% CI				
Sensitividad	67/69	97,1%	90,0 – 99,2%	
Especificidad	550/562	97,9%	96,3 – 98,8%	
Correlación	617/631	97,8%	96,3 – 98,7%	
Tasa de resultados no válidos	16/663	2,4%	1,5 – 3,9%	

Dieciséis muestras produjeron resultados no válidos: cinco hisopos y 11 muestras de orina. Seis muestras no fluyeron a través de la columna **M-prep** y no produjeron resultados con Alethia.

Las muestras usadas en el estudio se obtuvieron de pacientes a quienes un médico había prescrito la realización de una prueba de clamidias y/o gonorrea. Ciento diecisiete (25,0 %) pacientes fueron considerados asintomáticos y 55 (11,8 %) fueron considerados sintomáticos. Los 295 pacientes restantes no fueron clasificados.

Se dispuso de información sobre la edad de 466 de los pacientes cuyas muestras fueron utilizadas para las pruebas. La edad de los pacientes osciló entre los 14 y los 66 años. Los pacientes menores de 14 años fueron excluidos del estudio. Doscientos noventa y nueve (64,0 %) pacientes tenían una edad comprendida entre los 14 y los 21 años; 166 (35,5 %) tenían entre 21 y 65 años; y 1 (0,2 %) tenía más de 65 años y menos de 90. No se dispuso de información sobre la edad de 1 (0,2 %) paciente. No se advirtieron diferencias de rendimiento basadas en la edad.

La población del estudio incluyó 277 (59,3 %) mujeres y 190 (40,7 %) hombres. No se espera que las características de rendimiento del ensayo Alethia Chlamydia se vean influidas por el sexo del paciente.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica o límite de detección del ensayo Alethia Chlamydia se determinó para una cepa de *C. trachomatis* que representaba el serotipo D. El límite de detección se determinó utilizando 60 copias y una determinada probabilidad (p. ej. 95%, donde 57/60 copias son positivas) de obtener respuestas positivas. La prueba de sensibilidad analítica se resume a continuación.

Serotipo	Cepa	IFU/mL
D	D-UW3r	2,5

REACTIVIDAD DEL ENSAYO

Las siguientes cepas de *C. trachomatis* se sometieron a prueba y dieron lugar a una reacción positiva con Alethia Chlamydia a las concentraciones indicadas:

Serotipo	Cepa ID	Concentración (IFU/mL)
A	Har 13	2,5
B	Har 36	0,625
Ba	Apache 2	0,625
C	Har 32	0,625
E	Bour	10,0
F	IC-Cal3	0,625
G	UW 57	0,625
H	580	0,625
I	UW12	0,625
J	UW36	1,25
K	UW31	0,625

REPRODUCIBILIDAD

Tres laboratorios realizaron estudios de reproducibilidad. Se suministraron paneles de 10 muestras codificados con enmascaramiento a los laboratorios participantes. Las muestras se distribuyeron aleatoriamente dentro de cada panel para enmascarar las identidades de las muestras. Los paneles incluyeron muestras fabricadas como positivas moderadas (15 IFU/mL), positivas bajas (5 IFU/mL) y negativas altas (0,078 IFU/mL). El panel incluyó también una muestra negativa, un control positivo y un control negativo. La prueba fue realizada por diferentes operadores en cada centro el mismo día (variabilidad intraensayo) durante cinco días (variabilidad interensayo). En este estudio se utilizaron tres lotes de Alethia Chlamydia y nueve instrumentos Alethia. Se probaron los controles negativos y positivos cada día de pruebas. Los resultados aparecen en la tabla que sigue:

Tipo de muestra	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Total	
	Acuerdo en porcentaje		Acuerdo en porcentaje		Acuerdo en porcentaje		Acuerdo en porcentaje	
Positivo moderado	29/30	96,7%	29/30	96,7%	28/30	93,3%	86/90	95,6%
Positivo bajo	30/30	100,0%	29/30	96,7%	26/30	86,7%	85/90	94,4%
Negativo alto	30/30	100,0%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	89/90	98,9%
Negativo	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Control negativo	10/10	100,0%	10/11	90,9%	10/10	100,0%	30/31	96,8%
Control positivo	10/10	100,0%	10/11	90,9%	10/10	100,0%	30/31	96,8%

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizaron estudios de reactividad cruzada con muestras positivas y negativas de orina inoculadas con microorganismos a una concentración final de 1,2 x 10⁶ CFU/mL. Ninguno de los siguientes organismos reaccionó con Alethia Chlamydia: *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca* y *Neisseria subflava*.

PRUEBAS PARA SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias químicas, a las concentraciones saturadas de disolvente/diluyente especificadas, no interfirieron en los resultados de la prueba: Ácido acetilsalicílico (4 mg/mL), paracetamol (3,2 mg/mL) y desodorante en polvo vaginal (2,5 % m/v).

Las siguientes sustancias biológicas, a las concentraciones saturadas de disolvente/diluyente especificadas, no interfirieron en los resultados de la prueba: orina ácida [pH 4, (100 % v/v)], orina alcalina [pH 9, (100 % v/v)], β-estradiol (0,07 mg/mL), ADN humano (3,333 ng/mL), leucocitos (1,04 x 10⁶ células/mL), mucina [glándula submaxilar bovina tipo I-S (0,2 % m/v)], progesterona (7 mg/mL), líquido seminal (5,0 % v/v), sangre completa (0,3 % v/v).

alethia®

Chlamydia

DNA Amplification Assay

DNA-Amplifikationsassay zum Nachweis von *Chlamydia trachomatis*

REF 480450

IVD

VERWENDUNGSZWECK

Der Alethia Chlamydia (CT)-Assay, durchgeführt auf dem Alethia Inkubator/-Lesegerät, ist ein in-vitro-Diagnosenachweis zur Erkennung von *Chlamydia trachomatis* in endozervikalen Abstrichen, die vom Arzt (oder einem anderen trainierten medizinischen Fachpersonal) entnommen wurden, in vaginalen Abstrichen, die vom Patient in klinischer Umgebung entnommen wurden, sowie Urinproben von Männern und Frauen.

Der Alethia CT-Assay nutzt die „Loop-Mediated Isothermal DNA Amplification“ (LAMP)-Technologie, bei der *Chlamydia trachomatis* durch gezielte Amplifikation eines bestimmten Segments des *Chlamydia trachomatis*-Genoms nachgewiesen wird. Die Ergebnisse des Alethia CT-Assays können als Unterstützung in der Diagnose von Chlamydien-urogenital-Infektionen bei symptomatischen und asymptomatische Personen eingesetzt werden. Dieser Assay ist nicht für die Behandlungskontrolle bei Chlamydien-Infektionen vorgesehen.

Der Alethia CT-Assay ist für die Anwendung im Krankenhaus und in staatlichen oder Referenz-Laboren vorgesehen. Der Test soll nicht für die „Point-of-Care-Diagnostik“ verwendet werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Der Alethia Chlamydia-Molekular-Assay basiert auf der „Loop-Mediated Amplification“ (LAMP)-Technologie.¹ Der Assay zielt auf eine 240-Basenpaarsequenz (bp) des kryptischen *Chlamydia trachomatis*-Plasmids ab. Die DNA-Zielsequenz ist in einer Region des Plasmids zu finden, die ein unbenanntes Proteinprodukt kodiert. Die Zielsequenz ist in allen 33 Stämmen von *C. trachomatis* enthalten.

Bei der LAMP-Technologie werden spezielle Primer verwendet, um eine spezifische und kontinuierliche isothermale DNA-Amplifikation zu erzielen. Ein Nebenprodukt der Amplifikation ist Magnesiumpyrophosphat, das einen weißen Niederschlag bildet, wodurch eine trübe Reaktionslösung entsteht. Die Absorptionsmerkmale der Reaktionslösung werden von dem Alethia Meridian-Inkubator/-Lesegerät überprüft. Die durch den Niederschlag von Magnesiumpyrophosphat erzeugten Änderungen der Absorptionsmerkmale der Reaktionslösung deuten auf die Anwesenheit der Ziel-DNA hin. Die Abwesenheit von Ziel-DNA bewirkt keine signifikante Änderung der Absorption des Probenmaterials.

Das Alethia Chlamydia-Kit enthält die Alethia Chlamydia/Gonorrhoea-Assay-Kontrolle, die Alethia-Chlamydia-Analysegefäße und Mineralöl. Bei der Alethia Assay-Kontrolle, welche für die Verdünnung und Vorbereitung des Probenmaterials verwendet wird, handelt es sich um eine gepufferte Lösung mit Formalin-behandelten *E. coli*-Zellen, die *Staphylococcus aureus*-DNA beherbergen. Die Alethia Chlamydia-Analysegefäße enthalten ein lyophilisiertes Amplifikationsreagenzkügelchen in jeder der beiden Kammern: eine TEST-Kammer mit Chlamydien-spezifischen Primern und eine KONTROLL-Kammer mit *S. aureus*-spezifischen Primern. Zusammen funktionieren die *S. aureus*-DNA im Kontrollreagenz und die *S. aureus*-spezifischen Primer in der KONTROLL-Kammer als interne Kontrolle für den Assay. Bei der Präparation des Probenmaterials wird jede Patientenprobe mit dem Kontrollreagenz verdünnt, welches das *S. aureus*-Kontrollziel enthält. Die Zugabe von *S. aureus*-DNA zur Patientenprobe ermöglicht die parallele Verarbeitung von Ziel-DNA und Kontroll-DNA durch die Vorbereitung, Amplifikation und Detektion der Proben. Die DNA-Extraktion, die Amplifikationsinhibition, Assay-Reagenzleistung und die Effizienz der Probenverarbeitung werden von der internen Kontrolle überwacht. Das *S. aureus*-Kontrollziel muss amplifiziert und in der endgültigen Reaktion erkannt werden, oder der Test wird als ungültig erachtet und die Patientenergebnisse werden nicht berichtet.

Zur Beobachtung der Änderungen der Absorptionsmerkmale misst der Alethia Inkubator/-Lesegerät den Lichtdurchlass durch die Test- und Kontroll-Reaktionslösungen. Der Lichtdurchlass wird zu Beginn des Testdurchlaufs (Signal_{initial}, S_i) und am Ende des Testdurchlaufs (Signal_{final}, S_f) des Assays erfasst. Die Änderung des Lichtdurchlasses zwischen Ende und Beginn des Durchlaufs (S_f:S_i) wird vom Alethia Lesegerät bestimmt, und das Verhältnis wird mit einem festgelegten Cutoff-Wert verglichen.

Die Probenergebnisse werden anhand festgelegter Cutoff-Werte für die TEST-Kammer gemeldet: S_f:S_i-Verhältnisse der TEST-Kammer von weniger als 82 % werden als „POSITIV“, S_f:S_i-Verhältnisse der TEST-Kammer größer als oder gleich 82 % werden als „NEGATIV“ gemeldet. Es werden keine numerischen Werte ausgegeben.

Die Gültigkeit wird anhand fester Cutoff-Werte für die KONTROLL-Kammer beurteilt. S_f:S_i-Verhältnisse der KONTROLL-Kammer von weniger als 90 % werden für gültig erachtet und lassen die Meldung der Ergebnisse der TEST-Kammer zu (POSITIV, NEGATIV). S_f:S_i-Verhältnisse der KONTROLL-Kammer größer als oder gleich 90 % werden für ungültig erachtet und verhindern die Meldung der Ergebnisse der TEST-Kammer. Ungültige Ergebnisse für die KONTROLL-Kammer werden als „UNGÜLTIG“ gemeldet. Es werden keine numerischen Werte ausgegeben.

Die Cutoff-Kriterien für die KONTROLL-Kammer sind strenger, um zu gewährleisten, dass die Amplifikation nicht gehemmt wird, dass die Reagenzien bestimmungsgemäß funktionieren und dass die Probenverarbeitung sachgemäß durchgeführt wurde.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Chlamydia trachomatis ist eine der weltweit am häufigsten sexuell übertragenen Bakterieninfektionen. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) schätzt, dass es jährlich 92 Millionen Fälle von *C. trachomatis* gibt.² Chlamydien ist die am häufigsten gemeldete sexuell übertragene Infektion in den USA, wobei 2010 mehr als 1,3 Millionen Fälle auftraten.³

Chlamydien sind unbewegliche, gramnegative, obligat intrazelluläre Bakterien. Die Art *C. trachomatis* besteht aus 15 Serovaren (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 und L3), die in drei Gruppe eingeteilt sind, wobei jede Gruppe einem anderen Krankheitsstadium zugeordnet wird. Die Serovaren A–C sind für die Erkrankung des Auges ursächlich. Die Serovaren D–K bilden die Hauptursache der genitalen Chlamydien-Infektionen bei Frauen und Männern. Die Serovaren L1, L2 und L3 sind für das Lymphogranuloma venereum verantwortlich. Eine *C. trachomatis*-Infektion verursacht Zervizitis, Urethritis, Salpingitis, Proktitis und Endometritis bei Frauen sowie Urethritis, Epididymitis und Proktitis bei Männern. Asymptomatische Infektionen treten sowohl bei Frauen als auch Männern häufig auf. Nicht behandelte Chlamydien können zu ernsthaften gesundheitlichen Problemen wie eine entzündliche Beckenerkrankung (PID), eine ektopische Schwangerschaft und Unfruchtbarkeit führen.⁴ Der Organismus kann im Geburtskanal übertragen werden; Kindern, die von infizierten Müttern geboren werden, tragen ein wesentlich höheres Risiko einer neonatalen Ophthalmie oder Pneumonie in sich.⁴ Aufgrund der Risiken einer Chlamydien-Infektion empfiehlt eine Behörde der Vereinigten Staaten zum Schutz der öffentlichen Gesundheit, „The Centers for Disease Control and Prevention“ (CDC), einen jährlichen Chlamydien-Test für alle sexuell aktiven Frauen ≤ 25 Jahren.⁴

REAGENZIENENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

- Alethia Chlamydia/Gonorrhoea-Assay-Kontrolle:** Phosphatgepufferte Lösung mit blauem Farbstoff und mit Formalin behandelten *E. coli*-Zellen, die Plasmid mit einem Segment des *S. aureus*-Genoms in sich tragen, mit Natriumazid (0,09 %) als Konservierungsmittel. In Flaschen mit Tropfenkappe verpackt.
- Alethia-Chlamydia-Analysegefäße:** Die in einem Schutzbeutel verpackten Gefäße mit zwei Kammern enthalten lyophilisierte Amplifikationsreagenzien (DNA-Polymerase, Deoxynukleotridiphosphate) und entweder Chlamydien-spezifische Primer (TEST-Kammer) oder Kontroll-Primer (KONTROLL-Kammer).
- Mineralöl**
- Transferringpipetten**

SEPARAT DELIEFERTE MATERIALIEN

M-prep™-DNA-Probenpräparationskit, Bestellnummer von Meridian Bioscience, Inc.: 281110

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

- Einweg-Latexhandschuhe, ungepudert
- DNase/RNase-freie, aerosolbeständige Pipettenspitzen
- Sterile, aus Kunststoff bestehende Urinprobensammelbehälter ohne Konservierungsmittel
- MSwab™ Sammel-, Konservierungs- und Transportsystem für Molekular- und Kulturanwendungen, Bestellnummer von Copan Flock Technologies Srl: 6E028N.MER
- Externe Laufkontrolle NATrol™ für *Chlamydia trachomatis* (Stamm D-UW-3), Bestellnummer von Zeptomatrix: NATCT(D-UW3)-ERCL
- Tris-EDTA (TE)-Puffer für die Molekularbiologie
- Nuklease-freie Mikrozentrifugengefäße, 2 mL

NICHT MITGELIEFERTE AUSTRÜSTUNG

- Mikrozentrifuge für 2.000 ± 250 RCF (2.000 ± 250 × G)
- Alethia Inkubator/-Lesegerät, Bestellnummer von Meridian Bioscience, Inc.: 610189
- Mikropipette(n) zur Abgabe von 50 µL und 250 µL
- Intervall-Stoppuhr

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
- Das Assay-Kontrollreagenz und die Analysegefäße zwischen Chargen nicht austauschen. Das Mineralöl ist austauschbar unter der Voraussetzung, dass das Verfallsdatum beachtet wird.
- Während des Tests müssen Verfahren gemäß der Biosicherheitsstufe 2 und die Grundsätze der Guten Laborpraxis eingehalten werden.⁵ Alle Proben und verwendeten Analysegefäße müssen als potenzielle Überträger von Infektionserregern behandelt werden. In den Bereichen, in denen die Proben und Reagenzien der Kits bearbeitet werden, darf weder gegessen, noch getrunken oder geraucht werden.
- Bei der Handhabung der Proben sind Einweghandschuhe zu tragen und anschließend sind die Hände gründlich zu waschen.
- Qualitätskontrollprogramme für Labore, die Molekulartests durchführen, müssen eingesetzt werden.
- Die Alethia-Chlamydia-Analysegefäße enthalten lyophilisierte Reagenzien. Der Schutzbeutel darf erst dann geöffnet werden, wenn der Assay durchgeführt wird.
- Die Alethia-Chlamydia-Analysegefäße sind mit einer Sperrvorrichtung ausgestattet, die eine Kontamination des Testbereichs mit dem Amplifikationsprodukt verhindern soll. Testgefäße mit defekter Sperrvorrichtung NICHT verwenden.
- Gebrauchte Alethia-Analysegefäße müssen sofort nach Gebrauch entsorgt und die Sperrvorrichtung muss sicher arretiert bleiben. Das Analysegefäß nach der Verarbeitung NICHT öffnen. Öffnen des Gefäßes nach der Amplifikation kann zur Kontamination des Testbereichs mit dem Amplifikationsprodukt führen.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

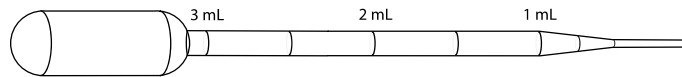
Es gibt keine bekannten Gefahren die mit diesem Produkt verbunden sind.

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Kits angegeben. Kit bei 2-30 °C aufbewahren.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die dem Alethia Chlamydien-Kit beiliegende Transferpipette ist separat verpackt und für eine Abgabe von bis zu 3 mL geeignet. Die Pipette ist unten abgebildet.



VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Sicherstellen, dass Kitreagenzien vor Gebrauch Raumtemperatur (19–30 °C) haben. Werden die Reagenzien vor Gebrauch nicht auf Raumtemperatur gebracht, kann es zu falschen Ergebnissen kommen.

PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG

Probentypen: Vom Arzt entnommene endozervikale Abstriche, vom Patienten (in klinischer Umgebung) entnommene vaginale Abstriche, Urinproben von Männern und Frauen

Probenahme von endozervikalen und vaginalen Abstrichen

Endozervikale und vaginale Abstriche sollten von einer geschulten medizinischen Fachkraft gemäß den Richtlinien der jeweiligen Einrichtung genommen werden.

Vaginale Abstriche können von der Patientin selbst genommen werden, wenn sie von einer geschulten medizinischen Fachkraft angewiesen und überwacht wird. Die Richtlinien der jeweiligen Einrichtung müssen beachtet werden.

Sammeln von Urinproben

Urinproben müssen in einem sterilen, aus Kunststoff bestehenden Probensammelbehälter ohne Konservierungsmittel gesammelt werden. Zur Sicherstellung der Probenqualität müssen folgende Schritte unternommen werden:

1. Der Patient darf mindestens 1 Stunde vor Probenahme nicht urinieren.
2. Der Patient muss die ersten 10–30 mL des gelassenen Urins (erster Teil des Strahls, nicht der Mittelstrahlurin) direkt im Probensammelbehälter auffangen.
3. Den Probensammelbehälter verschließen und mit Patienten- und Probensammelinformationen beschriften.

Gesammelte Abstriche und Urinproben müssen nach der Probenahme gekühlt gelagert werden (bei 2 bis 8 °C). Gekühlte Proben können bis zu 7 Tage vor dem Test aufbewahrt werden. Die Proben nicht einfrieren.

VORBEREITUNG DER PROBEN

HINWEIS: Den Alethia Inkubator/-Lesegerät anschalten. Sicherstellen, dass die erforderlichen Leistungsverifizierungen vor der VORBEREITUNG DES PROBENMATERIALS abgeschlossen wurden. Weitere Informationen zur Einrichtung und zum Betrieb des Geräts sind dem Alethia Lesegerät Bedienerhandbuch zu entnehmen.

Der Bedienungsanleitung des **M-prep-DNA-Probenpräparationskits** sind weitere Informationen zur Säulenvorbereitung, -ausrichtung und -verwendung zu entnehmen. Eine **M-prep**-Säule pro Probe verwenden. Die obere Säulenkappe sowie den unteren Drehverschluss entfernen, und die Säulenspitze zum Abtropfen in einem **M-prep**-Röhrchen platzieren. Die abgetropften **M-prep**-Säulen müssen innerhalb von einer Stunde verwendet werden.

Sicherstellen, dass die Proben vor der Präparation Raumtemperatur (19–30 °C) haben.

Vorbereitung von Abstrichen

1. Den Abstrichtupfer im Medium zum Mischen drehen. Den Behälter mit dem Medium vorsichtig öffnen.
2. Mithilfe einer Transferpipette 1,5 mL des Abstrichmediums in ein 2,0-mL-**M-prep**-Mikrozentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss geben. Die Transferpipette anschließend entsorgen.
3. Die Alethia Chlamydia/Gonorrhea-Assay-Kontrolle kurz vortexen. Einen Tropfen der Assay-Kontrolle in das **M-prep**-Röhrchen mit dem Probenmedium geben. **Die präparierte Probe ist nach der Zugabe des Assay-Kontrollreagenz hellblau.**
4. Das **M-prep**-Röhrchen, das die Probe enthält, verschließen.

Vorbereitung von Urinproben

1. Den Urinsammelbehälter kreisförmig schwenken, um den Urin zu vermischen. Den Urinsammelbehälter vorsichtig öffnen.
2. Mithilfe einer Transferpipette 1,5 mL des Urins in ein 2,0-mL-**M-prep**-Mikrozentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss geben. Die Transferpipette anschließend entsorgen.
3. Die Alethia Chlamydia/Gonorrhea-Assay-Kontrolle kurz vortexen. Einen Tropfen der Assay-Kontrolle in das **M-prep**-Röhrchen mit dem Probenmedium hinzu geben. **Die vorbereitete Probe ist nach der Zugabe des Assay-Kontrollreagenz hellblau.**
4. Das **M-prep**-Röhrchen, das die Probe enthält, verschließen.

Vorbereitung einer externen Positivkontrolle

1. Die externe Laufkontrolle NATrol™ für *Chlamydia trachomatis* vortexen.
2. 1,5 mL TE-Puffer in ein Nuklease-freies 2,0-mL-Mikrozentrifugengefäß geben.
3. Mithilfe einer Mikropipette 250 µL externe Laufkontrolle in das Röhrchen mit dem TE-Puffer geben.
4. Die Alethia Chlamydia/Gonorrhea-Assay-Kontrolle kurz vortexen. Einen Tropfen der Assay-Kontrolle in das **M-prep**-Röhrchen mit dem Probenmedium geben.
5. Das Mikrozentrifugenröhrchen, das die externe Kontrolle enthält, verschließen.

Präparation einer externen Negativkontrolle

1. 1,75 mL TE-Puffer in ein nuklease-freies 2,0-mL-Mikrozentrifugengefäß geben.
2. Die Alethia-Chlamydia/Gonorrhea-Assay-Kontrolle kurz vortexen. Einen Tropfen der Assay-Kontrolle in das **M-prep**-Röhrchen mit dem Probenmedium geben.
3. Das Mikrozentrifugenröhrchen, das die externe Kontrolle enthält, verschließen.

Probenverarbeitung

HINWEIS: Die Menge der vorbereiteten Probe, die am Ende der Probenverarbeitung gesammelt wird, muss ausreichend sein, um 2 Alethia-Tests durchführen zu können.

1. Jedes **M-prep**-Röhrchen, das eine Probe enthält, für 3 Minuten mit 2.000 ± 250 RCF (2.000 ± 250 × G) zentrifugieren.
2. Das **M-prep**-Röhrchen aus der Mikrozentrifuge entnehmen. Den Überstand abgießen, ohne die während der Zentrifugation entstandenen Pellets zu zerstören.
3. Mithilfe einer Mikropipette 250 µL **M-prep**-Puffer I in das **M-prep**-Röhrchen geben. Die Pipettenspitze entsorgen. Die Mischung 10 Sekunden vortexen.
4. Mithilfe einer auf 250 µL eingestellten Mikropipette die gesamte vorbereitete Probe auf die Oberseite einer entsprechend beschrifteten und präparierten **M-prep**-Säule geben. Etwa 2 Minuten bzw. so lange warten, bis die Säule die Probe aufgesaugt hat und der Fluss stoppt. Dieser Schritt sollte nicht länger als 30 Minuten dauern.
5. Mithilfe einer Mikropipette 250 µL **M-prep**-Puffer II auf die Oberseite der **M-prep**-Säule geben. Die Pipettenspitze entsorgen. **Die Säule färbt sich nach der Zugabe des M-prep-Puffers II rot.** Etwa 2 Minuten bzw. so lange warten, bis die Säule den rot gefärbten Puffer aufgesaugt hat und der Fluss stoppt. Dieser Schritt sollte nicht länger als 30 Minuten dauern.
6. Mithilfe des **M-prep**-Röhrchens den letzten Tropfen der Flüssigkeit aus der Säulenspitze entfernen. Das Röhrchen entsorgen.
7. Ein sauberes **M-prep**-Röhrchen unter der **M-prep**-Säule platzieren. Mithilfe einer Mikropipette 250 µL **M-prep**-Puffer III auf die Oberseite der **M-prep**-Säule geben. Die Pipettenspitze entsorgen. Etwa 2 Minuten bzw. so lange warten, bis der Fluss stoppt. Dieser Schritt sollte nicht länger als 30 Minuten dauern.
8. Mithilfe des **M-prep**-Röhrchens den letzten Tropfen der Flüssigkeit aus der Säulenspitze entfernen. Das Röhrchen mit den Probenidentifikationsinformationen beschriften und mit dem Test fortfahren.

TESTDURCHFÜHRUNG

HINWEIS: In einem einzelnen Lauf auf dem Alethia Inkubator/-Lesegerät können maximal 10 Analysegefäße eingesetzt werden.

1. Für jede Probe ein Alethia Chlamydia-Analysegefäß aus dem Schutzbeutel nehmen. Öffnen Sie vorsichtig das Gerät indem Sie die Sperrvorrichtung heben, und es aufrecht halten, so dass das lyophilisierte Reagenz beim Öffnen nicht herausfällt. Das Gefäß auf eine ebene Oberfläche oder in einen für das Gefäß passenden Probenständer setzen.
2. 50 µL der Probe in die TEST-Kammer (Links/weißes Kügelchen) und in die KONTROLL-Kammer (Rechts/gelbes Kügelchen) des Alethia Analysegefäßes geben. Darauf achten, dass keine Luft von außen in das Reaktionsgemisch eindringt. Mischen Sie die Reaktionen nicht mit der Pipette.
3. Einen Tropfen Mineralöl zur TEST- und KONTROLL-Kammer hinzufügen. Das Alethia-Analysegefäß verschließen und die Sperrvorrichtung sichern.
4. Das Gefäß leicht auf die Arbeitsfläche klopfen oder daran tippen, um Luftblasen zu entfernen. Das Gefäß sorgfältig auf die Auflösung des Kontroll-/Test- Kügelchen sowie auf Luftblasen im Röhrchen und Flüssigkeit im oberen Teil des Gefäßes prüfen. Falls nicht gelöste Kügelchen, Luftblasen oder Flüssigkeit im Oberteil des Gefäßes zu erkennen sind, das Gefäß vorsichtig auf die Arbeitsfläche klopfen und die Sichtkontrolle wiederholen. Die Amplifikation und Detektion sollte innerhalb von 15 Minuten initiiert werden.
5. Das Alethia-Analysegefäß in das Alethia Lesegerät geben und den Lauf starten. Die Ergebnisse werden am Schluss des Laufs angezeigt.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Proben-ID	Ausgegebenes Ergebnis	Interpretation
Patientenprobe	POSITIV	Probe enthält <i>Chlamydia trachomatis</i> -Ziel-DNA.
	NEGATIV	Keine <i>Chlamydia trachomatis</i> -DNA nachgewiesen.
	UNGÜLTIG	Kein angezeigtes Ergebnis. Wiederholen Sie den Test unter Verwendung der originalen Patientenprobe. Inhibitorische Patientenprobe, unsachgemäße Probenvorbereitung, Reagenzversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
Positivkontrolle	POSITIV	Gültiges positives Kontrollergebnis. Reagenzien, die zum Zeitpunkt der Verwendung aktiv sind, funktionieren mit dem, Alethia Lesegerät korrekt.
	NEGATIV	Falsches Kontrollergebnis. Wiederholen Sie als ersten Schritt die Kontrolltests, um die Fehlerquelle zu ermitteln. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.
	UNGÜLTIG	Kein angezeigtes Ergebnis. Wiederholen Sie den gesamten Testlauf unter Verwendung der ursprünglichen Proben. Falsche Probenvorbereitung, Reagenzversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
Negativkontrolle	POSITIV	Falsches Kontrollergebnis. Wiederholen Sie als ersten Schritt die Kontrolltests, um die Fehlerquelle zu ermitteln. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.
	NEGATIV	Gültiges negatives Kontrollergebnis. Reagenzien, die zum Zeitpunkt der Verwendung aktiv sind, funktionieren mit dem, Alethia Lesegerät korrekt.
	UNGÜLTIG	Kein angezeigtes Ergebnis. Wiederholen Sie den gesamten Testlauf unter Verwendung der ursprünglichen Proben. Falsche Probenvorbereitung, Reagenzversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
LEERER SCHACHT	KEINER	Kein Alethia-Analysegefäß in der Vertiefung des Alethia Lesegeräts. ODER Das vorhandene Alethia-Analysegefäß ist aufgrund fehlerhafter Probenvorbereitung, verunreinigtem Gefäß oder falsch aufgestelltem Gefäß beeinträchtigt. Wiederholen Sie den Test unter Verwendung der ursprünglichen Proben.

QUALITÄTSKONTROLLE

Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch.

- Jedes Gefäß enthält eine interne Kontrolle, die die Amplifikationsinhibition, Assay-Reagenzien und die Effizienz der Probenverarbeitung überwacht.
- Gemäß Guter Laborpraxis ist die Anwendung von Kontrollmaterialien empfohlen. Anwender sollten die entsprechenden bundesstaatlichen, staatlichen und kommunalen Richtlinien zur Mitführung von externen Qualitätskontrollen befolgen.
- Es wird empfohlen, die Reaktivität jeder neuen Charge und jeder neuen Lieferung des Alethia Chlamydia-Testkits beim Empfang und vor Gebrauch zu überprüfen. Externe Kontrolltests sind danach gemäß bundestaatlichen, staatlichen und kommunalen Richtlinien durchzuführen. Das Alethia Chlamydia-Testkit sollte nicht für Tests von Patientenproben verwendet werden, wenn die externen Kontrollen nicht die richtigen Ergebnisse erbringen.
- Für jedes externe Kontrollreagenz muss ein separates Analysengefäß verwendet werden.

ERWARTETE WERTE

Die Inzidenz von *Chlamydia trachomatis*, die durch den Alethia Chlamydia-Assay bei prospektiven, nicht ausgewählten Proben während des Zeitraums dieser klinischen Studien nachgewiesen wurde, betrug 2,8 % (3/107) bei endozervikalen Abstrichen, 3,9 % (4/102) bei vaginalen Abstrichen und 16,1 % (73/454) im Urin.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Dieses Produkt kann nur mit dem Alethia-Instrument verwendet werden.
- Bei dem Alethia Chlamydia-Assay handelt es sich um einen qualitativen Assay, der keine quantitativen Ergebnisse oder Informationen zur Belastung mit den Organismen liefert.
- Die Leistung des Alethia Chlamydia-Assays bei endozervikalen und vaginalen Abstrichen wurde mithilfe des Sammel-, Konservierungs- und Transportsystems Copan MSwab™ für Molekular- und Kulturanwendungen (Bestellnummer: 6E028N.MER) bestimmt. Die Verwendung von alternativen Abstrichsammelsystemen kann zu falschen Ergebnissen führen und wird nicht empfohlen.
- Die Detektion von Nukleinsäuren hängt von der korrekten Probennahme sowie Handhabung, Transport, Lagerung und Vorbereitung ab. Wird das ordnungsgemäße Verfahren bei einem dieser Schritte nicht eingehalten, kann dies zu falschen Ergebnissen führen.
- Die Nukleinsäuren des Organismus können unabhängig von der Lebensfähigkeit des Organismus *in vivo* weiter existieren. Der Alethia Chlamydia-Assay unterscheidet nicht zwischen lebensfähigen und nicht-lebensfähigen Organismen.
- Wie bei allen anderen diagnostischen Tests auf molekularer Grundlage können (A) falsch negative Ergebnisse infolge der Präsenz von Inhibitoren, technischen Fehlern, Vertauschen der Proben und geringer Organismenanzahl in der klinischen Probe vorkommen, (B) falsch positive Ergebnisse infolge der Präsenz einer Kreuzkontamination mit Zielorganismen, deren Nukleinsäuren oder dem amplifizierten Produkt sowie von nicht-spezifischen Signalen entstehen.

LEISTUNGSMERKMALE

Der Alethia Chlamydia-DNA-Amplifikationsassay wurde zwischen Juli und September 2014 evaluiert. Die klinische Probenentnahme wurde von drei unabhängigen Einrichtungen durchgeführt, die geografisch unterschiedliche Regionen der USA repräsentieren. Es wurden endozervikale Abstriche vom Arzt, vaginale Abstriche vom Patienten sowie Urinproben von Männern und Frauen genommen, die symptomatisch oder asymptomatisch waren. Die Studie wurde durch übrig gebliebene, klinische Urinproben ergänzt, die von Patienten stammen, deren Arzt einen Chlamydien- und/oder Gonorrhö-Test angeordnet hatte. Die klinischen Proben wurden durch den Hersteller mit dem Alethia Chlamydia-Assay getestet.

Die Leistung des Alethia Chlamydia-Assays wurde durch ein unabhängiges Referenzlabor mit einem etablierten, handelsüblichen PCR-Assay zur Feststellung von *Chlamydia trachomatis* und einer Vergleichsmethode verglichen. Informationen über die klinische Studie werden nachfolgend beschrieben:

Tabelle 1 Leistungsmerkmale - *C. trachomatis*

Komparator (Vergleichseinrichtung)	Alethia Chlamydia Alle Proben kombiniert, alle Patienten Weibliche endozervikale Abstriche, weibliche vaginale Abstriche, Urinproben von Frauen und Männern			
	Positiv	Negativ	Ungültig	Kein Ausfluss
Positiv	67	2	4	0
Negativ	12	550	12	6
Nicht getestet	1	9	0	0
Gesamt	79	566	16	6
95 % VI				
Sensitivität	67/69	97,1 %	90,0 – 99,2 %	
Spezifizität	550/562	97,9 %	96,3 – 98,8 %	
Korrelation	617/631	97,8 %	96,3 – 98,7 %	
Ungültige Ergebnisse	16/663	2,4 %	1,5 – 3,9 %	

Sechzehn Proben lieferten ungültige Ergebnisse, bei denen es sich um fünf Abstriche und 11 Urinproben handelte. Sechs Proben flossen nicht durch die **M-Prep**-Säule und brachten keine Alethia-Ergebnisse.

Die in der Studie verwendeten Proben stammten von Patienten, deren Arzt einen Chlamydien- und/oder Gonorrhö-Test angeordnet hatte. 117 Patienten (25,0%) wurden als asymptomatisch und 55 (11,8%) als symptomatisch angesehen. Die übrigen 295 Patienten wurden nicht eingestuft.

Bei 466 Patienten, deren Proben getestet wurden, lagen Informationen über das Alter vor. Das Patientenalter lag zwischen 14 und 66 Jahren. Patienten unter 14 Jahren wurden von der Studie ausgeschlossen. 299 Patienten (60,5%) waren zwischen 14 und 21 Jahre alt, 166 (33,6%) zwischen 21 und 65 Jahre, und einer (0,2%) war über 65 Jahre, jedoch unter 90 Jahre. Das Alter eines Patienten (0,2%) war unbekannt. Es wurden keine Leistungsunterschiede aufgrund des Alters festgestellt.

Die Studienpopulation umfasste 277 (59,3%) weibliche und 190 (40,7%) männliche Patienten. Es wird nicht erwartet, dass das Geschlecht der Patienten die Leistungsdaten des Alethia Chlamydia-Assay beeinflusst.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die analytische Sensitivität bzw. die Nachweisgrenze für den Alethia Chlamydia-Assay wurde für einen Stamm *C. trachomatis* bestimmt, der Serovar D repräsentierte. Die Nachweisgrenze wurde unter Verwendung von 60 Replikaten und einer angegebenen Wahrscheinlichkeit (z. B. 95%, von denen 57/60 Replikate positiv sind) des Erhalts von positiven Reaktionen bestimmt. Die Tests zur analytischen Sensitivität sind nachstehend zusammengefasst:

Serovar	Stamm	IFU/mL
D	D-UW3r	2,5

ASSAY-REAKTIVITÄT
Die folgenden *C. trachomatis*-Stämme wurde getestet und ergaben eine positive Reaktion mit dem Alethia Chlamydia-Assay in den angegebenen Konzentrationen:

Serovar	Stamm ID	Konzentrationen (IFU/mL)
A	Har 13	2,5
B	Har 36	0,625
Ba	Apache 2	0,625
C	Har 32	0,625
E	Bour	10,0
F	IC-Cal3	0,625
G	UW 57	0,625
H	580	0,625
I	UW12	0,625
J	UW36	1,25
K	UW31	0,625

REPRODUZIERBARKEIT
Reproduzierbarkeitsstudien wurden in drei Laboren durchgeführt. Dafür wurden den teilnehmenden Laboren verschlüsselte Panels von 10 Proben übergeben. Die Proben waren innerhalb jedes Panels nach dem Zufallsprinzip gereiht, um die Probenidentität zu maskieren. Die Panels umfassten künstliche Proben in Form von mittelpositiven Proben (15 IFU/mL), leicht positiven Proben (5 IFU/mL) und hoch negativen Proben (0,078 IFU/mL). Das Panel enthielt auch eine negative Probe, eine positive Kontrolle und eine negative Kontrolle. Die Tests wurden am selben Tag von verschiedenen Bedienern in jeder Einrichtung (Intra-Assay-Variabilität) fünf Tage lang (Inter-Assay-Variabilität) durchgeführt. In dieser Studie wurden drei Chargen des Alethia Chlamydia-Assays und neun Alethia-Instrumente eingesetzt. An jedem Testtag wurden die Positiv- und Negativkontrollen getestet. Die Ergebnisse sind in der Tabelle unten angeführt:

Probenart	Einrichtung 1		Einrichtung 2		Einrichtung 3		Gesamt	
	Prozentuale Übereinstimmung		Prozentuale Übereinstimmung		Prozentuale Übereinstimmung		Prozentuale Übereinstimmung	
Mäßig positiv	29/30	96,7 %	29/30	96,7 %	28/30	93,3 %	86/90	95,6 %
Schwach Positiv	30/30	100,0 %	29/30	96,7 %	26/30	86,7 %	85/90	94,4 %
Sehr Negativ	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	29/30	96,7 %	89/90	98,9 %
Negativ	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	10/10	100,0 %	30/30	100,0 %
Negativkontrolle	10/10	100,0 %	10/11	90,9 %	10/10	100,0 %	30/31	96,8 %
Positivkontrolle	10/10	100,0 %	10/11	90,9 %	10/10	100,0 %	30/31	96,8 %

KREUZREAKTIVITÄT
Kreuzreaktivitätsstudien wurden mit positiven und negativen Urinproben durchgeführt, die mit Mikroorganismen bis zu einer Endkonzentration von $1,2 \times 10^6$ KBE/mL inokuliert waren. Keiner der folgenden Organismen reagierte mit dem Alethia Chlamydia-Assay: *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Morganella morganii*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria denitrificans*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, und *Neisseria subflava*.

STÖRSUBSTANZEN-TESTS
Die folgenden chemischen Substanzen stören in den angegebenen gesättigten Lösungsmittel-/Verdünnungsmittelkonzentrationen die Testergebnisse nicht: Acetylsalicylsäure (4 mg/mL), Acetaminophen (3,2 mg/mL) und feminines Körperpuder (2,5 % w/v).

Die folgenden biologischen Substanzen stören in den angegebenen gesättigten Lösungsmittel-/Verdünnungsmittelkonzentrationen die Testergebnisse nicht: Saurer Urin [pH 4, (100 % Volumenanteil)], alkalischer Urin [pH 9, (100 % Volumenanteil)], Beta-Östradiol (0,07 mg/mL), menschliche DNA (3,333 ng/mL), Leukozyten ($1,04 \times 10^6$ Zellen/mL), Mucin [bovin-submaxillärer Drüsentyp I-S (0,2 % Massekonzentration)], Progesteron (7 mg/mL), Samenflüssigkeit (5,0 % v/v), Vollblut (0,3 % v/v).

- REFERENCES**
1. Nagamine, K., Hase, T., Notoni, T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplifications using loop primers. Mol Cell Probes 2002;16:223-29.
 2. World Health Organization. 2005. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
 3. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Surveillance 2010 Atlanta: U.S Department of Health and Human Services; 2011.
 4. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2012. MMWR 2010; 59(No. RR_12): [44-55].
 5. CLSI: MM3-A2 Molecular diagnostic methods for infectious disease; approved guideline, 2nd ed. Wayne PA: Clinical Laboratory Standards Institute. 2006.



0459

SN11031

REV. 08/21



Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244 USA
Telephone: 513.271.3700
Orders/Customer Service:
800.543.1980
Technical Support Center:
800.343.3858
Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124



Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe S.r.L.
Via dell'Industria, 7
20035 Villa Cortese, Milano
ITALY
Tel: +39 0331 43 36 36
Fax: +39 0331 43 36 16
Email: info@meridianbioscience.eu
WEB: www.meridianbioscience.com/eu

Meridian Bioscience Europe s.a./n.v.
2 Avenue du Japon - 1420 Braine l'Alleud
BELGIUM
Tel: +32 (0) 67 89 59 59
Fax: +32 (0) 67 89 59 58
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe France
34 rue de Ponthieu - 75008 Paris
FRANCE
Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40
Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10
Email: info.fr@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe B.V.
Zekeringstraat 17 A
1014BM Amsterdam
NETHERLANDS
Tel: +31 (0) 411 62 11 66
Fax: +31 (0) 411 62 48 41
Email: Info.bnl@meridianbioscience.eu

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized Representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostika 98/79/EG.	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositif pour la préparation du campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdüngungspuffer befindet
		STERILE R	Sterilization by gamma irradiation / Sterilizzazione con raggi gamma / Sterilisation par irradiation aux rayons gamma / Esterilizado por radiación gamma / Sterilisation durch Gammastrahlen
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	RoHS	Restriction of Hazardous Substances / Restrizione di sostanze pericolose / Limitation de substances dangereuses / Restricción de Substancias Nocivas / Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		Caution, consult accompanying documents / Attention, vedere le istruzioni per l'uso / Attention voir notice d'instructions / Atención, ver instrucciones de uso / Achtung, Begleitdokumente beachten
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	STERILE EO	Sterilization by ethylene oxide / Sterilizzazione con ossido di etilene / Stérilisation par oxyde d'éthylène / Esterilizado por óxido de etileno / Sterilisation durch Ethylenoxid
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi / Contenu suffisant pour <n> tests / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction / tamponee / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung		ETL Registered Mark Certified / Marchio di certificazione registrato a livello nazionale / Certifié Conforme ETL / Marca de Certificación Registrada Nacional / ETL Konform beglaubigt
	Female / Femminile / De sexe féminin / Hembra / Frau		Recycle – do not dispose of as general waste / Riciclare – non eliminare come rifiuto generico / Recycle – ne pas éliminer dans une poubelle / Recycle – no deshecho como basura general / Recycling- dieses Produkt nicht über den Hausmüll entsorgen
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung		Heat Treatment Tube / Provetta per il Trattamento termico / Tube pour le traitement thermique / Tubo de tratamiento de calor / Röhrenchen zur Hitzebehandlung
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät		HOT SURFACE: Keep hands Away from Hot Surfaces / Superficie calda: tenere le mani lontane dalle superfici calde / SURFACES CHAUDES: Ne pas toucher les surfaces chaudes / Superficie Caliente: Mantenga las manos alejadas de la superficie caliente / Heiße Oberfläche: Kontakt mit heißen Oberflächen vermeiden
	LASER RADIATION: Avoid Exposure to Beam / RADIAZIONE LASER: Evitare l'esposizione al raggio / RAYONNEMENT LASER: Éviter l'exposition au faisceau / Radiación Laser: Evite la exposición a los Rayos / LASERSTRAHLUNG: Direkten Kontakt mit dem Strahl vermeiden	IPX-0	CAUTION: Protect from water / AVERTISSEMENT: Protéger de l'humidité / Precaución: Proteja del agua / WARNUNG: Vor Feuchtigkeit schützen
	CAUTION: Laser Radiation / ATTENZIONE: Radiazione Laser / AVERTISSEMENT: Rayonnement laser / Precaución: Radiación Laser / WARNUNG: Laserstrahlung	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
	CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Riskgefahr		Warning / Avvertenza / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweis
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer	MEDIA	Media / Terreno di trasporto / Milieux / Medio / Medium
MIN OIL	Mineral Oil / Olio Minerale / Huile Minérale / Aceite Mineral / Mineralöl	COL	Sample Preparation Column / Colonna di preparazione del campione / Colonne pour la préparation de l'échantillon / Columna de preparación de muestra / Säule zur Probenaufarbeitung
ST TUBE	Screw Top Tube / Provetta con tappo a vite / Tube à bouchon vissé / Tubo con tapa de rosca / Röhrenchen mit Schnitzverschluß	PRE REAG	Pretreatment Reagent / Reagente di Pretattamento / Réactif de prétraitement / Reactivo de prettamiento / Reagenz für die Vorbehandlung
BUF SMP	Sample Buffer / Soluzione tampone per il campione / Tampon de l'échantillon / Tampón de muestra / Probenpuffer	SMP PREP	Sample Preparation / Preparazione del campione / Préparation de l'échantillon / Preparación de Muestra / Probenvorbereitung
Rx Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig		
TUBE	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß		

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.