

MASTAZYME™ Chlamydia

MASTAZYME™ Chlamydia

REF 695010

96 Tests

UDI-DI: 4250729700170

Gebrauchsanweisung /
Instructions for Use

Nur zur Verwendung durch Fachpersonal /
For professional use only

CE 2797



Deutsch

Seiten

02–05



English

Pages

07–10

MASTAZYME™ Chlamydia**Verwendungszweck**

Der MASTAZYME™ CHLAMYDIA ist ein qualitativer, sensitiver Enzymimmunoassay zum Nachweis von Chlamydia-Antigen in urogenitalen Proben zur Unterstützung der Diagnose einer Chlamydiose.

Der im Assay verwendete monoklonale Antikörper reagiert mit LPS-Antigen aus *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila psittaci* und *Chlamydophila pneumoniae*.

Der Assay ist für die manuelle oder automatisierte Verwendung auf offenen EIA-Prozessorsystemen geeignet und nur für die professionelle In-vitro-Diagnostik vorgesehen. Alle Labortestergebnisse sollten in Verbindung mit anderen klinischen Daten interpretiert werden. Das klinische Urteil und weitere Tests müssen zusätzlich berücksichtigt werden.

Wichtiger Hinweis zur Gebrauchsanweisung

Bei etwaigen Assay-relevanten Änderungen der Gebrauchsanweisung wird das auf der letzten Seite stehende Versionsdatum aktualisiert. Für einen Zeitraum von 3 Monaten nach Vergabe der neuen Versionsnummer werden die Änderungen auf einem farbigen Beiblatt gekennzeichnet. Bitte stellen Sie sicher, dass Sie immer mit der aktuellen Gebrauchsanweisung arbeiten.

Testprinzip

Der MASTAZYME™ Chlamydia Antigennachweis basiert auf dem Prinzip des Einschnitt-Enzymimmunoassays. Mit diesem Testsystem kann das *Chlamydia trachomatis* LPS Antigen aus Urogenitalabstrichen nachgewiesen werden, die im MASTAZYME™ Transportmedium versendet werden.

Das Probenmaterial wird im Transportmedium 10 min gekocht. Nach Abkühlen wird das Probenmaterial zusammen mit dem Konjugat und dem monoklonalen Antikörper in die Wells der Mikrotiterplatte pipettiert. Chlamydia-spezifische Lipopolysaccharide (LPS) werden während des Inkubationsschritts (60 min 37 °C) durch monoklonale Antikörper (Maus) erkannt, die die Bindungsstelle für den Konjugatantikörper bilden. Unspezifisch und nicht gebundene Reaktionskomponenten werden in einem Waschschrift entfernt. Die TMB-Substratreaktion ergibt in Gegenwart von spezifischen Immunkomplexen eine Blaufärbung in den Wells, die nach dem Abstoppen in eine gelbe Farbe umschlägt.

Die Reaktionsansätze können nun mit einem ELISA-Plattenreader bei 450 nm (falls vorhanden mit einem Referenzfilter: 600–690 nm) ausgewertet werden. Die Extinktion ist proportional der Antigenkonzentration.

Packungsinhalt

- STRIPS Mikrotiterstreifen**
12 Mikrotiterstreifen in einer Halterung mit je 8 einzeln abbrechbaren Wells; vorbehandelt
- AB Monoklonaler Antikörper**
1 x 5,5 mL monoklonaler Anti-Chlamydia-Antikörper (Maus), gerichtet gegen Chlamydia-spezifisches LPS; enthält ≤ 0,005% Proclin (hautreizend, siehe Warnhinweise), die Lösung ist blau gefärbt; gebrauchsfertig
- CONJ Konjugat**
1 x 3 mL Konjugat, Meerrettichperoxidase-markierter Anti-Maus-IgG-Antikörper (Schaf), enthält ≤ 0,005% Proclin (hautreizend, siehe Warnhinweise), rot gefärbte Lösung; gebrauchsfertig
- CONTROL+ Positivkontrolle**
4 x 1 mL positive Kontrolle, enthält *C. trachomatis* Elementarkörperchen, gebrauchsfertig, enthält ≤ 0,005% Proclin (hautreizend, siehe Warnhinweise)
- CONTROL- Negativkontrolle**
4 x 1 mL negative Kontrolle, gebrauchsfertig, enthält ≤ 0,005% Proclin (hautreizend, siehe Warnhinweise)
- WASH CONC Waschlösung 30 x konz.**
1 x 50 mL, 30-fach konzentriert, enthält ≤ 0,005% Proclin (hautreizend, siehe Warnhinweise)
- SUBS TMB-Substrat**
1 x 22 mL 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidin, gebrauchsfertig
- STOP Stopplösung**
1 x 12 mL 1 M H₂SO₄ (Schwefelsäure, hautreizend, siehe Warnhinweise), gebrauchsfertig

Weitere verwendete Abkürzungen

- RTU gebrauchsfertig**

Zusätzlich benötigte Materialien

- Vortex
- Heizblock oder Wasserbad zum Erhitzen der Proben auf 100 °C
- Präzisionspipetten mit 25 µL, 50 µL und 200 µL Volumen oder Mehrkanalpipetten zum Pipettieren der entsprechenden Volumina
- Einmal-Pipettenspitzen
- Aqua dest. oder HPLC-Grade Wasser
- Saubere Gefäße (Messzylinder, Bechergläser) mit einem Volumen von 500 mL, 1000 mL oder 2000 mL
- Laborzentrifuge (2500 x g)
- 37 °C Inkubator
- Automatik-Washer oder geeignete manuelle Waschsyste
- ELISA-Mikrotiterplatten-Reader mit einem 450 nm Filter (optional Referenzfilter: 620 nm)

11. MASTAZYME™ Chlamydia Transportmedium (Best.-Nr.: 695020, UDI-DI: 4250729700187)
12. MASTAZYME™ Chlamydia Abstrichtupferset (Art.-Nr.: 695030, UDI-DI: 05060488970986). Für die urogenitale und endozervikale Probennahme dürfen nur Tupfer aus Dacron verwendet werden. Die Tupfer dürfen keinen Holzschacht haben. Tupfer mit Transportmedium aus Calcium Alginat, Agar oder Kohle dürfen nicht verwendet werden (Dacron ist ein eingetragener Handelsname der DuPont Inc.).

Warnhinweise

1. Halten Sie die allgemeinen Gesundheits- und Sicherheitsrichtlinien für die Arbeit mit potenziell infektiösen Materialien ein. Tragen Sie geeignete Schutzkleidung und benutzen Sie geeignete Laboreinrichtungen.
2. Vermeiden Sie Kreuzkontaminationen, sowie den Austausch der Flaschendeckel. Verwenden Sie keine kontaminierten Reagenzien. Reagenzien mit beschädigten Flaschen oder Verpackungen sollten aufgrund des Kontaminationsrisikos nicht verwendet werden. Für jede Probe oder jedes Reagenz sollte eine eigene Pipette bzw. Pipettenspitze verwendet werden.
3. Geöffnete Konjugat – oder Antikörperflaschen sollten vor der Verwendung auf Kontamination geprüft werden. Die Mikrotiterstreifen dürfen nur einmalig verwendet werden.
4. Einzelne Kitreagenzien enthalten bovine Komponenten. Zum Schutz vor Infektionen mit Prionen oder zoonotischen Erregern müssen die gängigen Arbeitsschutzregeln (GLP) eingehalten werden.
5. Das chromogene TMB-Substrat ist brennbar und kann bei Kontakt mit der Haut Reizungen verursachen. Von offener Flamme fernhalten.
6. Die Stopplösung, 1 M H₂SO₄, ist korrosiv. Kontakt mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.
(H: 315/319; P: 264/280/302+352/321/332+313/362+364)
7. ProClin wird wie angegeben als Konservierungsmittel verwendet. ProClin kann zu Hautreizungen führen. Bei Kontakt mit der Haut sollten die betroffenen Stellen gründlich mit Wasser und Seife gewaschen werden. Bei der Entsorgung mit viel Wasser nachspülen.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Lesen Sie die Anweisungen sorgfältig durch, bevor Sie den Test durchführen. Ändern Sie das Verfahren nicht ohne vorherige Validierung.
2. Der MASTAZYME™ Chlamydia wird zur Untersuchung von urogenitalen Proben verwendet. Die Vorschriften für den Umgang mit potenziell infektiösem Material müssen befolgt werden. Es muss sichergestellt werden, dass alle für den Umgang mit infektiösem Material relevanten Sicherheitsvorschriften beim Umgang mit Patientenproben eingehalten werden.

3. Keine Kitreagenzien nach dem Ablauf der Haltbarkeit verwenden.
4. Keine Kitreagenzien aus verschiedenen Chargen kombinieren.
5. Verwenden Sie nach Möglichkeit Einweg-Plastikmaterial. Wiederverwendbare Glasmaterialien sollten vor dem Gebrauch gründlich gewaschen und frei von Reinigungsmitteln gespült werden.
6. Für jeden Pipettierschritt ist eine neue Pipettenspitze zu verwenden.
7. Rand- und Seitenwandbenetzung der Wells vermeiden.
8. Ein Austrocknen der Wells während des Tests vermeiden.
9. Nur Laborwasser von höchster Qualität verwenden (z. B. Aqua dest., Aqua bidest., Aqua iniectionabilia, HPLC Grade).
10. Vor der Hitzeinaktivierung müssen alle Proben oder Kontrollen auf Raumtemperatur äquilibriert werden.

Entsorgung

Kitreagenzien, Proben und kontaminierte Einwegartikel sollten gemäß den einschlägigen Entsorgungsrichtlinien und -vorschriften für infektiöses Material entsorgt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

1. Der MASTAZYME™ Chlamydia kann ab Herstellung bis zu dem auf der Packung genannten Haltbarkeitsdatum verwendet werden, wenn er bei 2–8 °C aufbewahrt wird. Vor Gebrauch sind alle Reagenzien auf Raumtemperatur zu bringen.
2. Nach dem Öffnen sind die Reagenzien mindestens 90 Tage haltbar.
3. Klinische Abstrichproben können im Transportmedium bei 2–8 °C bis zu 8 Tage aufbewahrt werden. Für eine längere Aufbewahrung bis zu 6 Monaten sollten die Proben bei ≤ -70 °C eingefroren werden. Allerdings sind wiederholte Auftau- und Einfrierzyklen zu vermeiden.
4. Hitzebehandelte Patientenproben können bei 2–8 °C für 24 Stunden aufbewahrt werden, bei -20 °C bis zu 4 Wochen eingefroren.
5. Nach dem Verdünnen auf Arbeitskonzentration ist der Waschpuffer bei 15–30 °C in einer verschlossenen Flasche bis zu 30 Tage stabil.

Für eine längere Aufbewahrung sollten Proben bei -20 °C eingefroren werden. Allerdings sollten wiederholte Einfrier-/ Auftauzyklen vermieden werden.

Testvorbereitung

1. Alle Proben und Reagenzien müssen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur gebracht werden.
2. 50 mL des Waschpufferkonzentrats mit destilliertem Wasser auf 1500 mL (= 1:30 Verdünnung) auffüllen und gut durchmischen. Es wird empfohlen, nur jeweils das benötigte Waschlösungsvolumen anzusetzen.

Testdurchführung

Vorbemerkung: Beim Pipettieren der Reagenzien und Proben wird die nachstehende Reihenfolge empfohlen:

1. Monoklonaler Antikörper (blau gefärbte Lösung)
2. Konjugat (rot gefärbte Lösung)
3. Probe(n) oder Kontrollen

Um optimale Reaktionsbedingungen zu gewährleisten, dürfen keine Tropfen von Reagenzien oder Proben am Rand der Wells hängen bleiben. Der Reaktionsansatz muss vor den jeweiligen Inkubationsschritten sorgfältig gemischt werden.

1. Vor dem Test die Röhrchen mit dem Probenmaterial sowie die positiven und negativen Kontroll-Lösungen durch Schütteln (15 sec) gut durchmischen.
2. Die Proben- und Kontrollröhrchen 10 min bei 100 °C im Heizblock o.ä. erhitzen. Die Deckel der Röhrchen leicht öffnen (Druckausgleich!).
3. Nach Beendigung des Hitzeschrittes die Proben entnehmen und auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
4. Zwischenzeitlich kann die Mikrotiterplatte mit der benötigten Anzahl von Streifen/Wells zusammengesetzt werden. 2 Wells für die Kontrollen (1 negativ, 1 positiv) berücksichtigen!
5. 50 µL blau gefärbte Antikörperlösung zu den Ansätzen in die Wells pipettieren.
6. 25 µL des rot gefärbten Konjugats pipettieren.
7. Die abgekühlten Proben und Kontrollen durch Schütteln (15 sec) nochmals gut durchmischen.
8. 200 µL Proben- bzw. Kontroll-Lösung in die entsprechenden Wells pipettieren. Die Position der einzelnen Proben protokollieren, um Verwechslungen auszuschließen.
9. Die Wells mit der mitgelieferten Abdeckfolie versiegeln und gut mischen.
10. Den Reaktionsansatz bei 37 °C 1 Stunde (+/- 3 min) inkubieren.
11. Nach der Inkubation die Reaktionsansätze 5 x mit 350 µL Waschpuffer waschen. Reste der Waschlösung zum Schluss durch vorsichtiges Klopfen aus den Wells entfernen. (Bei Benutzung eines automatischen Waschgeräts muss das Gerät vorher mit Waschpuffer äquilibriert werden). Längeres Einwirken des Waschpuffers auf den Ansatz kann zu nicht aussagekräftigen Ergebnissen führen!
12. 200 µL gebrauchsfertige Substratlösung in jedes Well pipettieren.
13. Die Reaktionsansätze abdecken und bei Raumtemperatur 20 min im Dunkeln inkubieren. Chlamydia-positive Reaktionen zeigen eine blaue Farbe.
14. 50 µL Stopplösung in jedes Well pipettieren, dabei die Reihenfolge und das Zeitintervall wie bei der Substratzugabe einhalten.

Nach Zugabe der Stopplösung werden Chlamydia-positive Reaktionen gelb.

15. Die Reaktionsansätze innerhalb von 30 min mit einem ELISA-Platten-Reader bei 450 nm auswerten. Das Gerät gegen Luft eichen.

16. Die Ergebnisse der Auswertung protokollieren.

Auswertung

Vorbemerkung: Nach Eichung des Geräts sollte der Mittelwert der negativen Kontrolle bei $< 0,2$ Extinktionseinheiten, die positive Kontrolle bei $> 0,7$ Extinktionseinheiten liegen. Bei abweichenden Ergebnissen ist der Test nicht verwertbar und sollte wiederholt werden. Chargenspezifische Messdaten finden sich im QC-Zertifikat, das jedem Kit beiliegt.

1. Bei Mehrfachbestimmung den Mittelwert der negativen Kontrolle berechnen.
2. Berechnung des Cut-off (Grenzwert):
Mittelwert der negativen Kontrolle + $0,1$ Extinktionseinheiten
3. Berechnung der oberen Grenze der "Grauzone":
Cut-off + $0,05$ Extinktionseinheiten.

Interpretation der Ergebnisse

1. Ein positives Ergebnis liegt vor, wenn die Extinktion über dem oberen Wert der "Grauzone" liegt.
2. Ein negatives Ergebnis liegt vor, wenn die Extinktion dem Wert des Cut-off entspricht oder diesen unterschreitet.
3. Werte, die zwischen dem "Cut-off + $0,05$ " Extinktionseinheiten und dem Grenzwert liegen, fallen in die Grauzone. Der Test sollte bei Proben, die in diesem Absorptionsbereich liegen, wiederholt werden.

Interpretation der Ergebnisse bei Nachtestung

Bei jeder Probe, deren Extinktionswert innerhalb der "Grauzone" liegt, sollte die Bestimmung wiederholt werden. Erneutes Kochen der Proben ist allerdings nicht erforderlich.

2 Wells für die negative, 1 Well für die positive Kontrolle sollen im Wiederholungstest ebenfalls mitgeführt werden. Die Kontrollen sind - soweit möglich - den gleichen Fläschchen wie im Originaltest zu entnehmen.

Der Cut-off Wert ist aufgrund der wiederholten Negativkontrolle zu errechnen. Extinktionen der Proben, die höher als der Cut-off liegen, sind als positiv zu bewerten. Proben, die den gleichen oder einen niedrigeren Extinktionswert als der Cut-off aufweisen, sind als negativ zu betrachten.

Grenzen des Tests

1. Der MASTAZYME™ Chlamydia wurde mit rektal abgenommenen Proben nicht validiert.
2. Das Testergebnis darf nicht allein zur Bewertung des Ergebnisses herangezogen werden. Es sollte immer unter Berücksichtigung anderer Labor- und klinischer Daten interpretiert werden.
3. Ein negatives Ergebnis schließt nicht zwangsläufig eine Chlamydieninfektion aus. So kann der Test falsch-negativ ausfallen, wenn vor der Abnahme der

Probe andere Abstriche aus dem gleichen Bereich genommen wurden. Die Anzahl der Organismen kann zu gering sein, um ein positives Ergebnis zu erhalten.

4. Mit diesem Test wird das LPS-Antigen von *Chlamydia sp.* nachgewiesen. Neben *Chlamydia trachomatis* können auch *Chlamydophila psittaci* und *Chlamydophila pneumoniae* positiv reagieren.
5. Der MASTAZYME™ Chlamydia ELISA kann nicht zur Therapiekontrolle einer Chlamydieninfektion verwendet werden.
6. Bei forensischen Fragestellungen sollte der MASTAZYME™ Chlamydia nicht als einziger Labortest verwendet werden.

Testdaten

Urogenitalabstriche

Der MASTAZYME™ Chlamydia (unter dem Namen AntigEnz Chlamydia EIA) wurde an 320 Proben von Männern und 1209 Proben von Frauen getestet, die an drei unabhängigen Kliniken in den USA abgenommen wurden (Lit. 11). Die Proben stammen von Patienten, die aufgrund von Beschwerden die Klinik aufgesucht haben. Als Referenzmethode wurde die McCoy-Zellkultur herangezogen. Diskrepante Ergebnisse wurden mit der direkten Immunfluoreszenz weiter abgeklärt. Zusammengefasst stimmten die ELISA mit den Zellkulturergebnissen in 87% der Fälle bei Männern und in 86% der Fälle bei Frauen überein. Geschlechtsspezifische Faktoren hatten auf das Ergebnis einen geringen Einfluss. Die zusammengefassten Ergebnisse ergeben folgendes Bild:

Sensitivität	= 89,4 %
Spezifität	= 99,0 %

Kreuzreaktionen

Die Verwendung anderer als der im Kit vorhandenen Reagenzien oder eine Änderung der Testdurchführung kann zu falschen Ergebnissen führen.

Umfangreiche Testungen auf Kreuzreaktivität haben gezeigt, dass folgende Mikroorganismen bei einer Anzahl von etwa 10⁹ Organismen/Test durch den MASTAZYME™ Chlamydia Test nicht nachgewiesen werden konnten:

Acinetobacter calcoaceticus, *Acinetobacter lwoffii*, *Bacteroides bluus*, *Bacteroides capillus*, *Bacteroides fragilis* (3 Isolate), *Bacteroides melanogenicus*, *Bacteroides necrophorus*, *Bacteroides nucleatum*, *Bacteroides sphaericus*, *Candida albicans* (7 Isolate), *Corynebacterium diphtheriae* (2 Isolate), *Clostridium perfringens*, *Clostridium spp.*, *Enterobacter agglomerans*, *Escherichia coli* (4 Isolate), *Klebsiella oxytoca*, *Micrococcus sp.*, *Moraxella sp.*, *Neisseria gonorrhoea* (3 Isolate), *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* (2 Isolate), *Staphylococcus aureus* (5 Isolate), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococci sp.* (Gruppe G).

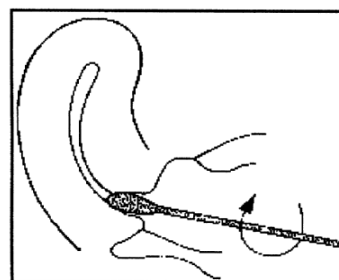
Probenentnahme

Proben aus der weiblichen Zervix und Urethra sowie aus der männlichen Urethra sollten so viele Epithelzellen wie möglich enthalten.

Sollen Proben zusätzlich auf Gonorrhoe untersucht werden, so ist dies vor Abnahme der Chlamydienbestimmung mit einem speziellen Tupfer durchzuführen.

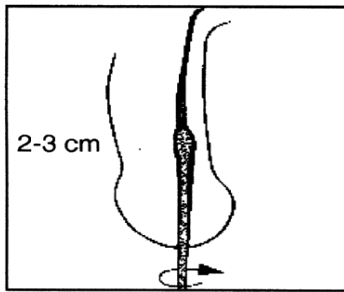
Endozervikale Probenentnahme bei der Frau

1. Den Zervixbereich mit einem großen Tupfer von überflüssigem Vaginalsekret reinigen.
2. Den Tupfer zur Probenentnahme in den endozervikalen Kanal einführen und 5–10 sec kräftig drehen.
3. Den Probenentnahmetupfer in den Portiobereich weiterführen. Durch kräftiges Drehen Probenmaterial entnehmen. Beim Herausführen des Tupfers den Kontakt mit den Vaginalwänden vermeiden.
4. Bei Abstrichen aus der Urethra (ca. 30 % der Infektionen) den Tupfer 2–3 cm unter Drehen in die Urethra einführen. Den Tupfer etwa 10 sec kräftig drehen, damit ein Kontakt mit dem Zylinderepithel gewährleistet ist.
5. Die Spitze des Tupfers in das Transportmedium eintauchen, kräftig schütteln und den Plastikstiel an der Kerbe abbrechen.
6. Das Gefäß mit Tupfer und Transportmedium verschließen und in das entsprechende Labor einsenden.



Urethrale Probenentnahme beim Mann

1. Proben sollten nicht abgenommen werden, wenn der Patient innerhalb der letzten Stunden uriniert hat.
2. Den Tupfer ca. 2–3 cm unter rotierendem Vorschub in die Urethra einführen, ca. 10 sec kräftig drehen, um einen Kontakt mit den Urethra-Epithelien zu gewährleisten.
3. Die Spitze des Tupfers in das Transportmedium eintauchen, kräftig schütteln und den Plastikstiel an der Kerbe abbrechen.
4. Das Gefäß mit Tupfer und Transportmedium verschließen und in das entsprechende Labor einsenden.



Verfügbarkeit des Kurzberichts über Sicherheit und Leistung (Art, 29, IVDR)

Der Bericht wird in der EUDAMED-Datenbank vorliegen (sobald das Modul verfügbar ist).
(<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>)
verfügbar sein.

Der SSP-Bericht wird auf Anfrage zur Verfügung gestellt.

Meldung von schwerwiegenden Vorkommnissen

Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates, in dem der Anwender und / oder Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

Referenzen und Änderungshistorie

Die Referenzen und die Änderungshistorie finden Sie am Ende der Gebrauchsanweisung.

MASTAZYME™ Chlamydia

Intended Purpose

MASTAZYME™ CHLAMYDIA is a qualitative, sensitive enzyme immunoassay for detection of Chlamydia antigen in endocervical and urethral specimens as an aid to diagnosis of chlamydiosis.

The monoclonal antibody used in the assay does react with LPS antigen from *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila psittaci* and *Chlamydophila pneumoniae*.

The assay is suitable for manual or automated use on open EIA processor systems and is intended for professional in-vitro diagnostic use only. All laboratory test results should be interpreted in conjunction with other clinical data. The clinical judgement and further tests have to be taken into account additionally.

Important Note for Use of these Kit Instructions

Any assay relevant changes to the kit instructions for use (IFU) will lead to a change of the version number at the bottom on the last page. All changes made will be identified on a separate sheet added to the IFU for a period of three months from the date of a change of the version. Please ensure that the latest version of the IFU is used for the assay procedure.

Principle of the Test

Der MASTAZYME™ Chlamydia is based on the principle of a one step enzyme immunoassay. With this test system, *Chlamydia trachomatis* antigen can be detected from urogenital swabs, which are sent in the MASTAZYME™ transport medium.

The sample material is boiled in the transport medium for 10 minutes. After cooling, the sample material is pipetted into the wells of the microtiter plate together with the conjugate and the monoclonal antibody. Chlamydia-specific lipopolysaccharides (LPS) are recognized during the incubation step (60 min 37 ° C) by monoclonal antibodies (mouse), which form a binding site for the conjugate antibody. Nonspecific and unbound reaction components are removed in a washing step. In the presence of specific immune complexes, the TMB substrate reaction produces a blue colour in the wells, which changes to a yellow colour after stopping.

The reaction batches can now be evaluated with an ELISA plate reader at 450 nm (if available with a reference filter: 600–690 nm). The absorbance is proportional to the antigen concentration.

Content

- STRIPS Microtiter strips**
12 single strips in a holder, each with 8 break-apart wells coated; pretreated
- AB Monoclonal antibody**
1 x 5.5 mL mouse monoclonal antibody specific for Chlamydia lipopolysaccharide, diluted in blue coloured solution, contains ≤ 0.005% Proclin (irritating to skin, see warnings), ready to use
- CONJ Conjugate**
1 x 3 mL sheep anti-mouse IgG antibody conjugated with horseradish peroxidase, red coloured solution containing ≤ 0.005% Proclin (irritating to skin, see warnings); ready to use
- CONTROL+ Positive control**
4 x 1 mL positiv control, contains *C. trachomatis* elementary bodies, contains ≤ 0.005% Proclin (irritating to skin, see warnings), ready to use
- CONTROL- Negative control**
4 x 1 mL negative control, contains ≤ 0.005% Proclin (irritating to skin, see warnings), ready to use
- WASH CONC Washing buffer, 30 x concentrated**
1 x 50 mL, 30 x concentrated, contains ≤ 0.005% Proclin (irritating to skin, see warnings)
- SUBS TMB substrate**
1 x 22 mL 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine, ready to use
- STOP Stop solution**
1 x 12 mL 1 M H₂SO₄ (sulphuric acid, irritating to skin, see warnings), ready to use

Further Abbreviation

- RTU ready to use**

Materials Required but not Provided

- Vortex mixer
- Heating block or water bath for heating the samples to 100 °C
- Precision pipettes with 25 µL, 50 µL and 200 µL volume or multichannel pipettes for pipetting the corresponding volumes
- Disposable pipette tips
- Aqua dest. or HPLC grade water
- Clean vessels (measuring cylinders, beakers) with a volume of 500 mL, 1000 mL or 2000 mL
- Centrifuge (2500 x g)
- 37 °C incubator
- Automatic washer or suitable manual washing systems
- ELISA microplate reader with a 450 nm filter (optional reference filter: 620 nm)

11. MASTAZYME™ Chlamydia Transport medium (Ref. No. 695020, UDI-DI: 4250729700187)
12. MASTAZYME™ Chlamydia Specimen Collection Swabs (Ref. No. 605030, UDI-DI: 05060488970986); female endocervical and male urethral Dacron® tipped swabs only should be used. Wooden shafted swabs, alginate swabs and agar or charcoal containing swabs should not be used. Dacron® is a registered trade-mark of DuPont Inc.).

Warnings

1. Comply with the general health and safety guidelines for working with potentially infectious materials. Wear appropriate protective clothing and use appropriate lab facilities.
2. Do not cross-contaminate reagents or interchange caps on bottles. Do not use contaminated reagents. Do not use reagents with damaged bottles or packaging. Use a separate pipette or pipette tips for each sample and reagent.
3. Check opened conjugate and antibody vials for possible microbial contamination. Use the microtiter plate only once.
4. The kit reagents may contain bovine components. To protect against infections with prions or zoonotic pathogens, standard occupational safety regulations (GLP) must be observed.
5. The chromogenic TMB substrate is flammable and can cause irritation on contact with the skin. Keep away from open flame.
6. The stop solution, 1 M H₂SO₄, is corrosive. Avoid contact with skin, mucous membranes and eyes.
(H: 315/319; P: 264/280/302+352/321/332+313/362+364)
7. ProClin is used as a preservative as specified. ProClin may cause skin irritation. In case of contact with skin, wash the affected areas thoroughly with soap and water. When disposing of the product, rinse with plenty of water.

Precautions

1. Read instructions carefully before conducting the assay. Do not modify the procedure without prior validation.
2. The MASTAZYME™ Chlamydia is used to examine **urogenital** specimens. Regulations for the treatment of potentially infectious material must be followed. It must be ensured that all safety regulations relevant to the handling of infectious material are observed when handling patient samples.
3. Do not use reagents beyond the expiry date.
4. Do not mix reagents between different lots, as reagents have been calibrated for each batch.
5. Use disposable plasticware wherever possible. Re-usable glassware should be washed thoroughly and rinsed free of detergents before use.
6. Always use a new pipette tip for each pipetting step.
7. Avoid pipetting at side walls of the wells.

8. Do not allow wells to dry out during the assay procedures.
9. Only use laboratory water of the highest quality (e.g. Aqua dest., Aqua bidest., Aqua iniectionis, HPLC grade).
10. All samples or controls must be equilibrated to room temperature before heat inactivation.

Disposal

Kit reagents, samples and contaminated disposables should be disposed of in accordance with the relevant disposal guidelines and regulations for infectious materials.

Storage and Stability

1. The MASTAZYME™ Chlamydia and all unused components can be used until the expiry date displayed on the label, if stored at 2–8 °C. All samples or controls must be equilibrated to room temperature before heat inactivation.
2. The reagents are stable up to 90 days after opening.
3. Clinical swab specimens can be stored in the transport medium at 2–8 °C for up to 8 days. For longer storage up to 6 months, the samples should be frozen at ≤ -70 °C. However, repeated defrosting and freezing cycles should be avoided.
4. Heat-treated patient samples can be stored at 2-8 °C for 24 hours, frozen at -20 °C for up to 4 weeks.
5. After dilution to working concentration, the washing buffer is stable for up to 30 days at 15–30 °C in tightly capped containers.

For longer storage, samples should be frozen at -20 °C. However, repeated freeze / thaw cycles should be avoided.

Preparation for testing

1. All samples or controls must be equilibrated to room temperature.
2. Fill 50 mL of the wash buffer concentrate with distilled water to 1500 mL (= 1:30 dilution) and mix well. It is recommended to only use the volume of wash solution required

Test procedure

Preliminary note: The following running order is recommended when pipetting the reagents and samples:

1. Monoclonal antibody (blue coloured solution)
2. Conjugate (red coloured solution)
3. Sample (s) or controls

To ensure optimal reaction conditions, no drops of reagents or samples should get stuck on the edge of the wells. The reaction mixture must be mixed carefully before the respective incubation steps.

1. Thoroughly mix the tubes with the sample material and the positive and negative control solutions by shaking (15 sec) before the test.
2. Heat the sample and control tubes for 10 min at 100 °C in a heating block or similar. Open the lids of the tubes slightly (pressure compensation!).
3. After completion of the heat step, take the samples and allow them to cool to room temperature.
4. In the meantime, assemble the microtiter plate with the required number of strips/wells. Consider two wells for the controls (1 negative, 1 positive)!
5. Pipette 50 µL of blue stained antibody solution into the wells for the preparations.
6. Pipette 25 µL of the red stained conjugate.
7. Mix the cooled samples and controls by shaking (15 sec) again.
8. Pipette 200 µL sample or control solution into the respective wells. Record the position of each sample to avoid mix-ups.
9. Seal the wells with the supplied cover foil and mix well.
10. Incubate the reaction mixture at 37 °C for 1 hour (+/- 3 min).
11. After incubation, wash the reaction mixtures 5 x with 350 µL Washing buffer. Remove any remaining washing solution from the wells by gentle tapping. (When using an automatic washing device, the device must be equilibrated with Washing buffer). Prolonged exposure of the Washing buffer to the preparation may lead to inconclusive results!
12. Pipette 200 µL ready-to-use Substrate solution into each well.
13. Cover the reaction wells and incubate for 20 min in the dark at room temperature. Chlamydia-positive reactions show a blue colour.
14. Pipette 50 µL Stop solution into each well in the same order and time interval as for substrate addition.
After addition of Stop solution, Chlamydia-positive reactions turn yellow.
15. Interpret the reaction mixtures within 30 min with an ELISA plate reader at 450 nm. Calibrate the device against air.
16. Record the results of the evaluation.

Criteria for interpretation

Criteria for interpretation: After calibration of the instrument, the mean extinction value of the negative control should be less than 0.2 OD values. The extinction value of the positive control should be higher than 0.7 OD values. If negative and positive controls do not fit into these criteria the test should not be interpreted and has to be repeated. For batch specific OD values see "Certificate of Kit Performance" supplied in the kit.

1. Calculate the average absorbance value obtained for negative controls.
2. Calculate the cut-off value as follows:
Cut-off = mean absorbance of negative controls + 0.1 absorbance units.

3. Calculate the upper limit for the borderline area as follows: Upper limit = cut-off value + 0.05 absorbance units.

Interpretation of Results

1. A test specimen with an absorbance value greater than the upper limit of the borderline area is considered positive.
2. A test specimen with an absorbance value equal to or less than the cut-off level is considered negative.
3. A test specimen with an absorbance between the cut-off level and the upper limit is considered borderline and should be re-tested.

Interpretation of the results during retesting

The determination should be repeated for each sample whose absorbance value lies within the "grey zone". However, it is not necessary to boil the samples again.

2 wells for the negative control and 1 well for the positive control should also be included in the repeat test. If possible, the controls should be taken from the same vials as in the original test.

The cut-off value should be calculated from the repeated negative and positive controls. Absorbances of samples higher than the cut-off value are considered positive. Samples having the same or lower absorbance value than the cut-off are considered negative.

Limitations of the test

1. MASTAZYME™ Chlamydia has not been validated with rectally collected samples.
2. All test results should be interpreted in conjunction with other clinical data and medical judgement.
3. A negative result does not necessarily indicate the absence of chlamydial infection. Numbers of organisms below the detection limit of the kit or improper sampling may give false negative results.
4. These immunoassay detects the LPS antigen from *Chlamydia* sp. In addition to *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila psittaci* and *Chlamydophila pneumoniae* can lead to positive results.
5. MASTAZYME™ Chlamydia has not been assessed for its use in the determination of the patients response to therapy.
6. Diagnosis of chlamydial infection in forensic cases. MASTAZYME™ CHLAMYDIA should not be used as the only test for diagnosis.

Performance Characteristics

Urogenital specimens

MASTAZYME™ Chlamydia (formerly known as AntigEnz Chlamydia EIA) has been tested on 320 samples of men and 1209 samples of women at three independent clinical trial centres in the USA (Ref. 11). Specimens were randomly selected from high prevalence populations attending STD clinics with disease incidences. Results were compared with swab culture using McCoy cells, with discrepant results further examined by direct immunofluorescence testing on the centrifuged deposit of the specimen collected for MASTAZYME™ Chlamydia

evaluation. Overall accuracy or efficiency of MASTAZYME™ Chlamydia against culture was shown to be 87% in men and 86% in women.

There was little difference in performance between men and women. Combined performance figures were as follows:

Sensitivity	= 89.4 %
Specificity	= 99.0 %

Cross-reactivity

Use of reagents other than those included in the kit or a change in test procedure may result in erroneous results.

The following organisms were found to be non-reactive in the MASTAZYME™ Chlamydia test when present at approximately 10⁹ CFU/test:

Acinetobacter calcoaceticus, *Acinetobacter Iwoffii*, *Bacteroides bluus*, *Bacteroides capil-lus*, *Bacteroides fragilis* (3 isolates), *Bacteroides melanogenicus*, *Bacteroides necrophorus*, *Bacteroides nucleatum*, *Bacteroides sphaericus*, *Candida albicans* (7 isolates), *Corynebacterium diphtheriae* (2 isolates), *Clostridium perfringens*, *Clostridium spp.*, *Cytomegalovirus*, *Enterobacter agglomerans*, *Escherichia coli* (4 isolates), *Gardnerella vaginalis*, *Herpes simplex Viruses types I & II*, *Klebsiella oxytoca*, *Micrococcus sp*, *Moraxella sp*, *Neisseria gonorrhoea* (3 isolates), *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* (2 isolates), *Staphylococcus aureus* (6 isolates, one Protein A - producing Strain), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Treptococcus sp.* (Group A, B and G), *Ureaplasma urealyticum*.

Collection of Specimens

Specimens from the female cervix and urethra and from the male urethra should contain as many epithelial cells as possible.

If samples are to be additionally tested for gonorrhoea, this should be done with a special swab before taking the chlamydia test.

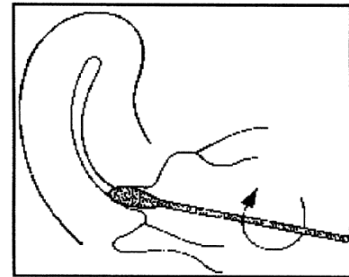
Female endocervical specimens

1. Clean the exocervical area with sterile gauze or swab before sampling, to remove excess mucus.
2. Insert the appropriated swab into the endocervical canal and rotate vigorously for 5–10 seconds.
3. Move the swab to the portio region and rotate vigorously, then withdraw the swab without touching the vaginal walls.
4. For urethral swabs (approximately 30 % of infections), insert the swab 2-3 cm into the urethra while turning. Rotate the swab vigorously for about 10 seconds to ensure contact with the cylindrical epithelium.
5. Dip the tip of the swab into the transport medium, shake vigorously and break off the plastic shaft at the notch.

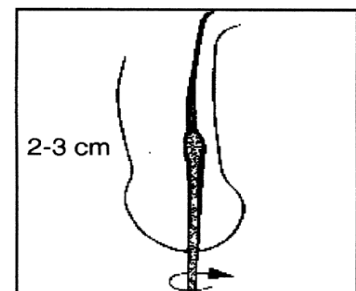
6. Close the tube with swab and transport medium and send it to the appropriate laboratory.

Male urethral specimens

1. Specimens should not be collected if the male has urinated within the previous hours.



2. Insert the appropriate male swab 2–3 cm into the urethra rotating the swab for 10 seconds and ensuring that all surfaces of the urethra are contacted.
3. Withdraw the swab and immerse into MASTAZYME™ Chlamydia Transport Medium. Agitate vigorously, break off the swab shaft.
4. Close the container with the swab and transport medium and send it to the appropriate laboratory.



Availability of the summary of safety and performance (Art. 29, IVDR)

The report will be available in the EUDAMED database (as soon as the module is available).

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>.

The SSP report will be provided on request.

Reporting serious incidents

All serious incidents that have occurred in connection with the device must be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and / or patient is established.

References and Change History

The references and the change history can be found at the end of the instructions for use.

Referenzen / References:

1. Grayston JT, Kuo CL et al. Chlamydia pneumoniae sp. nov for Chlamydia sp. strain TWAR. Int J Syst Bacteriol 1989; 39: 88-90
2. Schachter J. Chlamydia (Psittacosis-Lymphogranuloma Venerum-Trachoma Group) ch 85 in Manual of Clinical Microbiology 4th edition Ed Lenette A.S.M. 1985
3. Taylor Robinson D, Thomas BJ. The role of Chlamydia trachomatis in genital tract and associated diseases J Clin Pathol 1980; 33: 205-233
4. Brunham RC, Maclean IW et al. Chlamydia trachomatis; it's role in tubal infertility. J Infect Dis 1985; 152: 1275-1282
5. Weström L. Incidence, prevalence and trends in acute pelvic inflammatory disease and its consequence in industrial countries. Am Obstet & Gynecol 1980; 138: 880-892
6. Goh B. Chlamydia trachomatis genital infection. The Practitioner 1988; 232: 813-818
7. Alexander ER, Harrison HR. Role of Chlamydia trachomatis in perinatal infection. Rev Infect Dis 1983; 5: 713-719
8. Wentworth BB, Judson FN. Laboratory Methods for Diagnosis of STD. Am Public Health Ass. 1984.
9. Chlamydia infection, Annual Epidemiological Report for 2017
https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2017-chlamydia-infection.pdf
10. Facts about Chlamydia
<https://ecdc.europa.eu/en/chlamydia/facts>

Änderungshistorie / Change History

Change history includes changes to significant aspects of the assay / IFU.

Chapter	Description of change
Content	Inclusion of ProClin concentration, link to warnings added
Warnings	Clarification in ProClin warning

**Mast Diagnostica GmbH,**

Feldstraße 20,
23858 Reinfeld,
Deutschland

Tel: +49 (0)4533 2007 0
Fax: +49 (0)4533 2007 68
email: mast@mast-diagnostica.de
Web: www.mast-group.com

Mast Group Ltd.

Mast House, Derby Road
Bootle, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom

Tel: +44 (0)151 472 1444
Fax: +44 (0)151 944 1332
email: sales@mastgrp.com
Web: www.mast-group.com

Mast Diagnostic

12 rue Jean-Jacques Mention
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1
France

Tél: +33 (3) 22 80 80 67
Fax: +33 (3) 22 80 99 22
email: info@mast-diagnostic.fr
Web: www.mast-group.com

Verwendete Symbole gemäß DIN EN ISO 15223-1

Icons are used according to DIN EN ISO 15223-1